

143

# ACTA PHYSIOLOGICA

ACADEMIAE SCIENTIARUM  
HUNGARICAE

ADIUVANTIBUS

E. ERNST, B. ISSEKUTZ SEN., G. IVÁNOVICS, N. JANCsó,  
K. LISSÁK, E. T. SZÖRÉNYI

REDIGIT

F. B. STRAUB

TOMUS I.

FASCICULUS I.



MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA  
BUDAPEST, 1950

ACTA PHYSIOL. HUNG.

# ACTA PHYSIOLOGICA HUNGARICA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADEMIA  
KÍSÉRLETES ORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

SZERKESZTŐSÉG ÉS KIADÓHIVATAL: BUDAPEST VI, SZTÁLIN-ÚT 31

Az Acta Physiologica orosz, francia, angol és német nyelven közöl értekezéseket a kísérletes orvostudomány köréből.

Az Acta Physiologica változó terjedelmű füzetekben jelenik meg: 20—30 ív terjedelemben, több füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

A közlésre szánt kéziratok, lehetőleg géppel írva, a következő címre küldendők:

*Acta Physiologica, Budapest 62, Postafiók 440.*

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi és kiadóhivatali levelezés.

Az Acta Physiologica előfizetési ára kötetenként 60 forint. Megrendelhető a „Kultúra” Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest V, Akadémia-u. 10. Bankszámla: 929040. sz.), vagy külföldi képviselőinél és bizományosainál.

---

„Acta Physiologica” издает трактаты из области экспериментальной медицинской науки на русском, французском, английском и немецком языках.

„Acta Physiologica” выходит в брошюрах переменного объема (20—30 печатных листов несколько выпусков объединяются в одном томе.

Ежегодно предвидено издание одного тома.

Предназначенные для публикации авторские рукописи следует направлять, по возможности машинописью, по следующему адресу:

*Acta Physiologica, Budapest 62, Postafiók 440.*

По этому же адресу направляется всякая корреспонденция для редакции и администрации.

Подписная цена „Acta Physiologica” — 60 форинтов за том. Заказы принимает Предприятие по внешней торговле книг и газет „Kultúra” (Budapest V, Akadémia-utca 10. Счет Банка № 929040) или его заграничные представительства и уполномоченные.



## • ВСТУПЛЕНИЕ

Обновление Венгерской Академии Наук открыло новую главу в истории венгерской науки. Ученые Венгрии всеми силами стремятся служить делу народа и своими исследованиями способствовать созидательному труду построения социализма. Венгерская Народная Республика оказывает развитию научной жизни нашей страны громадную материальную и моральную помощь и наука пользуется в нашей родине таким уважением и такой поддержкой, как еще никогда в нашей истории. Одной из характерных черт нашей обновленной науки является связь между научной теорией и практической жизнью. Это взаимодействие оказывает серьезное, плодотворное влияние на развитие нашей науки.

Венгерская Академия Наук поставила себя целью изданием новой серии *Acta Physiologica* способствовать углублению международных связей прогрессивной науки, дальнейшему развитию науки, делу мира и прогресса и дружбы народов.

## INTRODUCTION

La renaissance de l'Académie des Sciences de Hongrie ouvre un nouveau chapitre dans l'histoire des sciences hongroises. Les savants hongrois font tous leurs efforts pour servir la cause du peuple travailleur et aider par leurs travaux de recherche le travail créateur de l'édification du socialisme. La République Populaire Hongroise contribue largement, matériellement et moralement, au développement de la vie scientifique de notre pays. Dans notre pays, le travail scientifique jouit d'une estime et d'un soutien tels qu'il n'en a encore jamais joui au cours de notre histoire. Une des caractéristiques de notre vie scientifique renaissante est le contact entre la vie scientifique et la vie pratique de notre pays. Cette influence réciproque se fait fructueusement sentir dans le développement de notre vie scientifique.

Le but de l'Académie des Sciences de Hongrie, en publiant la nouvelle série des *Acta Physiologica*, est de contribuer par là au développement des relations internationales de la science progressiste, au développement de la science, à la défense de la Paix et du progrès, et au développement de l'amitié entre les peuples.



## INTRODUCTION

The rebirth of the Hungarian Academy of Science has opened a new chapter in the history of Hungarian science. The scientists of Hungary endeavour in every way to serve the cause of the working people and with their research work to help in the creative task of building socialism. The Hungarian People's Republic affords vast help and encouragement to the development of the scientific life of our country and scientific work in Hungary today is honoured and aided to an extent that is unparalleled in the history of the land. One of the characteristic features of our reborn science is the connection between scientific theory and the practical life of the country. This interrelation has a profound stimulative effect on the development of our scientific life.

The aim of the Hungarian Academy of Science in starting the new series of *Acta Physiologica* is to contribute to the improvement of the international relations of progressive science, to the further development of science, to the cause of peace, progress and the closer friendship of the peoples.

## EINLEITUNG

Die Wiedergeburt der ungarischen Akademie der Wissenschaften eröffnete einen neuen Abschnitt in der Geschichte der ungarischen Wissenschaft. Die ungarischen Gelehrten bemühen sich auf jede Art und Weise der Sache des werktätigen Volkes zu dienen und mit ihren Forschungen die schöpferische Arbeit des Aufbaues des Sozialismus zu fördern. Zur Entwicklung des wissenschaftlichen Lebens in unserem Lande trägt die ungarische Volksrepublik mit riesiger materieller und moralischer Hilfe bei. Die Wissenschaftliche Arbeit in unserer Heimat wird in solchem Masse geschätzt und unterstützt, wie noch niemals in unserer Geschichte. Einer der charakteristischen Züge unserer wiedergeborenen Wissenschaft ist die Verbindung zwischen der wissenschaftlichen Theorie und der Praxis im Leben unseres Landes. Diese Wechselwirkung ist von ernstem, fruchtbarem Einfluss auf die Entwicklung unseres wissenschaftlichen Lebens.

Mit der Ausgabe der neuen Serie der Acta Physiologica verfolgt die ungarische Akademie der Wissenschaften das Ziel, beizutragen zur Vertiefung der internationalen Verbindungen der fortschrittlichen Wissenschaften, zur Weiterentwicklung der Wissenschaft, zum Frieden und zum Fortschritt, zur Sache der engeren Freundschaft zwischen den Völkern.



## BINDUNGSZUSTAND DES WASSERS UND DER ELEKTROLYTE IM MUSKEL

Von

E. Ernst, J. Tigyi und A. Zahoresek.

(Biophysikalisches Institut, Univ. Pécs.)

Eingegangen: 6. VI. 1955.

In zahlreichen Arbeiten wurde die Frage des Muskelwassers behandelt: sein Lösungsvermögen, seine Gefrierpunkts- bzw. Dampfdruckerniedrigung.<sup>1</sup> Es kann als Grundtatsache gelten, dass im Frochsmuskel der Wassergehalt etwa 80%, die organische Substanz etwa 19% betragen; der Muskel ist mit einer etwa 0,72%-igen NaCl-Lösung isotonisch, seine relative Dampfdruckerniedrigung ist etwa 0,0042. Man findet nun oft die Angabe, dass die Kristalloide des Muskels gerade genügend seien um, im Muskelwasser gelöst, die Isotonie mit einer 0,72%-igen NaCl-Lösung zustande zu bringen oder — was dasselbe bedeutet — die Dampfdruckerniedrigung des Muskels (d. h. des Muskelwassers) zu erklären. In anbetracht dessen hat sich die Auffassung ziemlich eingebürgert, dass alle Kristalloide des Muskels frei diffusibel sein müssen, um eben die Isotonie, die rel. Dampfdruckerniedrigung hervorrufen zu können. Wäre nämlich — so folgerten die Verfasser — ein Teil der Kristalloide in gebundenem Zustande, also nicht frei diffusibel vorhanden, so könnte dieser Teil an der Isotonie (an der Dampfdruckerniedrigung) nicht teilnehmen, also müsste sich die Dampfdruckerniedrigung kleiner als die tatsächliche erweisen und der Muskel mit einer NaCl-Lösung geringerer Konzentration — als 0,72% — isotonisch sein. (z. B. *Fenn*, 1; *Hill*, 10.)

Dieser Gedankengang gründet sich auf der Annahme, dass die Isotonie oder die Dampfdruckerniedrigung des Muskels *ausschliesslich* durch die im Muskelwasser gelösten Kristalloide bedingt sei. Dabei wird also der Muskel als ein System betrachtet, in welchem das Wasser *ausschliesslich* durch Lösung von Kristalloiden gebunden ist. Demgegenüber wurde von vielen Forschern (2, 3, 4, 6) und auch von uns (5) darauf hingewiesen, dass der Wassergehalt des Muskels nicht nur durch Lösung, sondern auch durch Quellung gebunden

<sup>1</sup> Fast alle diesbezüglichen Separata gingen während des Krieges verloren, sodass wir leider nicht imstande sind, die betreffenden Arbeiten einzelner Forscher zu zitieren.



wird, d. h. dass die Muskelsubstanz mit dem Muskelwasser gequollen ist. Die Quellung muss also in der Isotonie oder der Dampfdruckerniedrigung des Muskels eine Rolle spielen. Wenn aber — so folgerten wir — die Isotonie, die Dampfdruckerniedrigung teilweise durch Quellung bedingt ist, kann sie auch durch die Kristalloide ebenfalls nur teilweise hervorgerufen werden. Dazu ist aber nur ein Teil der Kristalloide nötig, da ja die gesamten Kristalloide des Muskels — wie gesagt — imstande wären, die Dampfdruckerniedrigung des ganzen Muskels zu verursachen. Kurz: es kann für den Teil der Dampfdruckerniedrigung, welcher nicht durch Quellung bedingt ist, nur ein Teil der gesamten Kristalloide verantwortlich gemacht werden.<sup>1</sup> Somit ist die obige Auffassung der ersterwähnten Verfasser unbegründet.

In vorliegender Mitteilung werden einige Versuchsreihen angeführt, durch welche die Angabe bewiesen werden soll, dass ein bedeutender Teil des Wassers im Muskel nicht durch Lösung von Kristalloiden, sondern durch Quellung gebunden ist.

## 1.

Das Mass, wie stark das Wasser durch Lösung oder Quellung gebunden ist, wird durch die relative Dampfdruckerniedrigung dargestellt. Wenn also die Frage geprüft werden soll, welchen Anteil Lösung bzw. Quellung an der Wasserbindung des Muskels haben, so wollen wir untersuchen, wie sich die Dampfdruckerniedrigung des Muskels bei verschiedenem Wassergehalt ver-

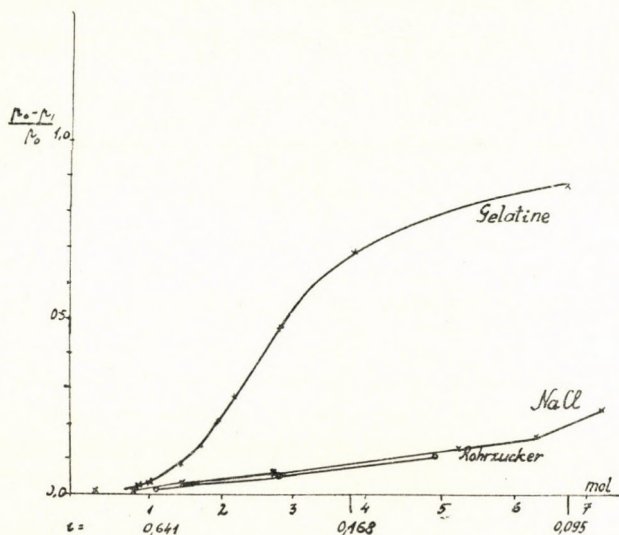


Abb. 1.

<sup>1</sup> Der andere Teil der Kristalloide muss diesbezüglich als wirkungslos betrachtet werden, woraus wir den Schluss gezogen haben, dass dieser Teil sich nicht frei diffusibel, sondern irgendwie gebunden im Muskel befindet.



hält, da ja bekanntermassen Lösung und Quellung diesbezüglich bedeutende Unterschiede aufweisen. a) Der Zusammenhang zwischen Konzentration einer Lösung und ihrem Wasserbindungsvermögen (rel. Dampfdruckerniedrigung) ist auf einem Diagramm leicht zu überblicken, auf dessen Abszisse die molare Konzentration der gelösten Substanz und auf die Ordinate die rel. Dampfdruckerniedrigung des Wassers aufgetragen ist. Ein solches Diagramm ist in Abb. 1. für verschieden konzentrierte Lösungen verschiedener Kristalloide zu sehen. b) Zweitens soll hier ein Diagramm folgen, welches den Zusammenhang zwischen Wassergehalt und rel. Dampfdruckerniedrigung bei Quellung darstellt. Der Grad der Quellung ( $i$ ) wird im Mehrfachen der Trockensubstanz ausgedrückt. (Wenn z. B. 1 g Gelatine mit 1,5 g Wasser gequollen ist, so beträgt der Quellungsgrad  $i = 1,5$ ). Abb. 1. zeigt auch dieses Diagramm; auf die Abszisse ist der Quellungsgrad ( $i$ ), auf die Ordinate die rel. Dampfdruckerniedrigung aufgetragen.

Nun wollen wir für den Muskel ein entsprechendes Diagramm gewinnen; zu diesem Zwecke wird der Wassergehalt des Muskels schrittweise verkleinert und gleichzeitig die Änderung des Dampfdruckes verzeichnet.

*Methodik.* Wird der Muskel in erster Näherung als ein Lösungssystem betrachtet, so kann er als eine 0,72%-ige NaCl-Lösung gelten; ist er aber als ein gequollenes System aufzufassen, so ist  $i = 4$ . (Weiter unten wird diese Frage genauer behandelt.) Vor allem wollen wir einer möglichen Zunahme der Kristalloide im Muskel infolge Manipulationen Rechnung tragen (z. B. 7) und darum für den Anfangspunkt 0,80% NaCl annehmen; zu diesem Abszissenwert gehört der Ordinatenwert von etwa 0,005 als rel. Dampfdruckerniedrigung. Ausgehend von diesem „Normalzustand“ wird ein gewisser Teil des Muskelwassers etappenweise entfernt und gleichzeitig der Dampfdruck bestimmt; am Ende des Versuches wird die Trockensubstanz des Muskels (im Vakuumexsikkator bei 100 C°) festgestellt. Sei z. B. das Gewicht eines Sartorius 0,200 und der Trockensubstanz 0,040 g, so enthielt er am Anfang 0,160 g Wasser; sei das Gewicht in einem Stadium des Versuches z. B. 0,080 g, so ist der Wassergehalt 0,040 g; es erfolgte also eine  $0,160/0,040 = 4$ -fache Trocknung. Somit beträgt der neue Wert der Abszisse  $i = 4/4 = 1$  bzw.  $0,80 \cdot 4 = 3,2\%$  (NaCl). Die zu den einzelnen Wassergehaltswerten gehörigen Werte der rel. Dampfdruckerniedrigung wurden folgendermassen bestimmt: Es wurde nach Katz (8) eine Serie von Schwefelsäurelösungen steigender Konzentration hergestellt, indem die notwendigen Mengen der Komponenten rechnerisch bestimmt, danach die Lösungen hergestellt und die spezifischen Gewichte mittels der Mohr—Westphalschen Waage kontrolliert wurden. Je ein Sartorius wurde mit je einer H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösung ins Dampfdruckgleichgewicht gebracht, dann sein Gewicht gemessen und endlich sein Trockengewicht bestimmt. So hatten wir die notwendigen Daten, da ja die rel. Dampfdruckerniedrigung der betreffenden H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösungen bestimmter



Konzentration bekannt sind. Es wurden folgende  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösungen angewandt und die nebenstehenden Werte der rel. Dampfdruckerniedrigung in Rechnung gestellt.

TABELLE 1.

No.	% $\text{H}_2\text{SO}_4$	$\frac{p_0 - p_1}{p_0}$
1.	81,2	0,980
2.	73,7	0,952
3.	65,1	0,878
4.	57,8	0,792
5.	52,7	0,694
6.	47,4	0,580
7.	42,5	0,475
8.	38,0	0,380
9.	32,4	0,282
10.	27,5	0,207
11.	22,5	0,143
12.	16,1	0,085
13.	7,8	0,035

*Ausführung des Versuches:* Es wurden gleich grosse, dunkle Flaschen von etwa 100 ccm Inhalt mit etwa 50 ccm je einer  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -Lösung beschickt, verstopft und bei Zimmertemperatur für 24—48 . . . Stunden stehen gelassen, um zu sehen, ob sie luftdicht geschlossen sind. Dies war tatsächlich der Fall, da das Gewicht der einzelnen Flaschen sich nicht änderte, wie das durch Tab. 2 gezeigt wird. Im Dampfraum dieser Flaschen (über der  $\text{H}_2\text{SO}_4$ -

TABELLE 2.

No.	Gewicht der Flasche g	
	Am Anfang	nach 48 Std.
1.	188,10	188,10
2.	183,92	183,92
3.	182,26	182,26
4.	175,25	175,25
5.	166,47	166,47
6.	168,56	168,56
7.	165,54	165,54
8.	163,66	163,66
9.	168,46	168,46
10.	161,47	161,47
11.	167,25	167,25
12.	156,42	156,42
13.	153,84	153,84

(Die Empfindlichkeit der Waage 0,003 g.)

Lösung) werden die Sartorien in der Weise gehalten, dass je ein Haken auf die Basis der Stöpsel mit Pizein befestigt und darauf der Sartorius aufgehängt wird. Eine ganze Serie von Muskeln wird gleichzeitig in die Flaschen



hineingelegt, nach einer gewissen Zeit gewogen und am Ende ihr Trockensubstanzgehalt bestimmt. Somit konnte zu jedem Wassergehalt des Muskels die entsprechende rel. Dampfdruckerniedrigung festgestellt werden. Zur Kontrolle wurden in dem Raum über die verschiedenen  $H_2SO_4$ -Lösungen winzige Glas-körbe<sup>1</sup> aufgehängt, in welche z. B. 0,040 g Arena Marina und 0,160 g 0,80%-ige NaCl-Lösung eingewogen wurden. Nach Erreichen des Gleichgewichtes mit den  $H_2SO_4$ -Lösungen konnten Wertepaare der %-igen Konzentration und der rel. Dampfdruckerniedrigung — wie früher — bestimmt werden.

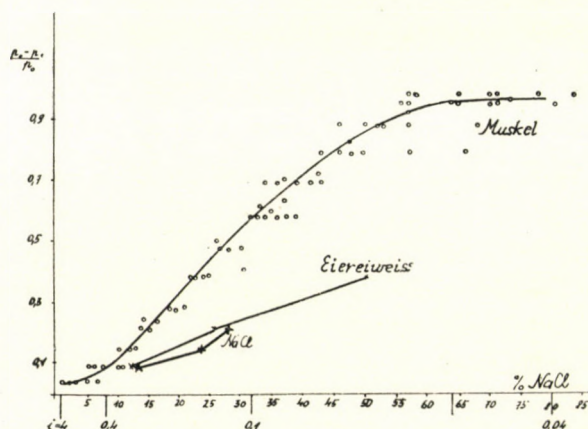


Abb. 2.

*Ergebnisse.* Die folgende Abb. 2 zeigt die Kurve der Funktion Wassergehalt—rel. Dampfdruckerniedrigung einerseits für Muskel (0—0), andererseits für NaCl-Lösung (x—x). Wie zu sehen, ist die Kurve der rel. Dampfdruckerniedrigung des Muskels bei kontinuierlichem Wasserverlust einer Quellungskurve sehr ähnlich und zeigt derartig hohe Werte, dass sie mit Quellung leicht zu erklären sind. Wäre aber der Muskel nur ein Lösungssystem wie die NaCl-Lösung, so müsste sich seine Kurve derjenigen der NaCl-Lösung ähnlich zeigen. Aus diesen Daten ergibt sich also mit ziemlicher Wahrscheinlichkeit der Schluss, dass *in der Dampfdruckerniedrigung (oder in dem Wasserbindungsvermögen) des Muskels die Quellung der Muskelsubstanz eine bedeutende Rolle spielt.* Daher muss die oft anzutreffende Behauptung verschiedener Forscher, alle Kristalloide seien, um die Isotonie des Muskels quantitativ erklären zu können, im Muskel frei diffusibel, als unbegründet fallen gelassen werden. Sie gründet sich nämlich auf der Annahme, dass die Isotonie oder Wasserbindung oder Dampfdruckerniedrigung ausschliesslich

<sup>1</sup> Die Glaskörbe können auf der Torsionswaage leicht und schnell gewogen werden.



durch Lösung der Kristalloide im Muskelwasser bedingt sei. Diese Annahme hat sich aber jetzt als unhaltbar erwiesen, indem es sich herausstellte, dass die — im Laufe zunehmenden Wasserverlustes — gefundene rel. Dampfdruckerniedrigung des Muskels ausschliesslich mit einer Lösung von Kristalloiden nicht erklärt werden kann.

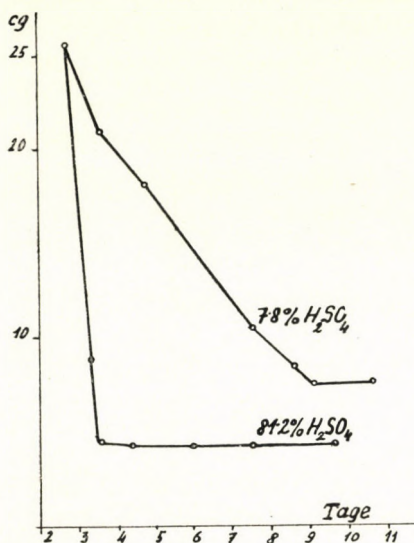


Abb. 3.

Muskels ermöglicht. Die folgende Abb. 3 zeigt, wie mit der Zeit das endgültige Gewicht des Muskels erreicht wird.

## 2.

Die obenerwähnte Annahme, wonach die Isotonie, d. h. die Wasserbindung des Muskels, nur in der Weise zu erklären sei, dass man den Muskel ausschliesslich als ein Lösungssystem von Kristalloiden betrachtet, erfreut sich in der einschlägigen Literatur weiter Verbreitung. Diese Annahme lässt aber — wie gesagt — die Tatsache ausser acht, dass an der Wasserbindung (d. h. rel. Dampfdruckerniedrigung) des Muskels auch die Quellung der Muskelsubstanz teilnimmt oder, anders ausgedrückt, der Muskel nicht nur als ein Lösungssystem, sondern auch als ein Quellungssystem angesehen werden muss. Die grosse physiologische Wichtigkeit dieser Frage macht es erforderlich, das Problem durch weitere experimentelle Beiträge zu klären. Die unten beschriebenen Versuche sollen ermöglichen: 1. den Dampfdruck des Muskels direkt zu messen (und nicht aus dem Vergleich mit H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Lösungen zu bestimmen); 2. die zu lange Dauer der Versuche und so die Schädigung des Muskels zu vermeiden. Der Grundgedanke der Methode ist der folgende: Ein Differentialmanometer verbindet zwei kleine gleiche Glasgefässe; in einem davon befindet sich ein Muskel. Werden nun beide Räume durch eine gemein-



same Verbindungsröhre evakuiert und dann verschlossen, so zeigt das Manometer an der Muskelseite fortschreitend zunehmende Druckwerte, welche dem Dampfdruck des Muskels entsprechen.

*Methodik.* Was die genaue Durchführung des Versuches betrifft, so müssen einige Einzelheiten Erwähnung finden. Der Apparat ist ein *Differentialmanometer* (*d*), speziell für den oben beschriebenen Zweck in der in Abb. 4 dargestellten Ausführung, ganz aus Glas, ohne Gummiverbindungen gebaut. Gefäße  $g_1$  und  $g_2$  haben ein möglichst kleines Volumen, damit die Dampfsättigung des Raumes schnell erreicht werde. So beträgt der Rauminhalt eines Gefäßes 7 ccm, was bedeutet, dass zur Sättigung bei 20 C° nur 0,13 mg Wasser verdampfen müssen. Die Sättigung geschieht am Anfang des Versuches in einigen Stunden; in späteren Stadien, nachdem der Wassergehalt des Muskels bedeutend abgenommen hat, dauert die Dampfsättigung doppelt so lang. Daher dauert ein Versuch, in dessen Verlauf etwa 6 bis 8 Werte-paare der Kurve (d. h. der Funktion Wassergehalt- rel. Dampfdruckerniedrigung) bestimmt werden, 2 bis 3 Tage. (Andererseits aber zeigt eine solche Serie den ganzen Tatbestand.)

Der Sartorius wird auf den Haken *h* des Stöpsels von  $g_1$  aufgehängt, die Zapfen 1, 2, 3 und 4 sind geöffnet (die drei Bohrungen des Zapfens 3 werden im Laufe des Versuches natürlich immer entsprechend gestellt), Zapfen 5 des stets evakuierten  $\text{CaCl}_2$ -Gefäßes ist im allgemeinen geschlossen. Dann evakuiert man mittels Ölpumpe etwa 10 Min. Das Differentialmanometer zeigt natürlich 0, Manometer *m* aber etwa noch 2 Hgmm, da ja der Muskel fortdauernd Wasserdampf abgibt. Jetzt wird Zapfen 4 und sofort danach Zapfen 1 geschlossen. Sogleich zeigt das Differentialmanometer einen steigenden Druck im Gefäß  $g_1$ , da ja vom Muskel fortdauernd Wasserdampf in das Vakuum abgegeben wird. In einigen Stunden erreicht der Druckunterschied im Differentialmanometer seinen endgültigen Wert, z. B. 15 mm Hg bei 20 C°. (Zur Apparatur gehört ein Thermometer mit 0,1 C°-Einteilung.) Das Hauptmanometer *m* zeigt dabei den anfänglichen Wert von 2 mmHg; wir wissen nun vorläufig nicht, ob in diesem Werte auch noch etwaige zurück-

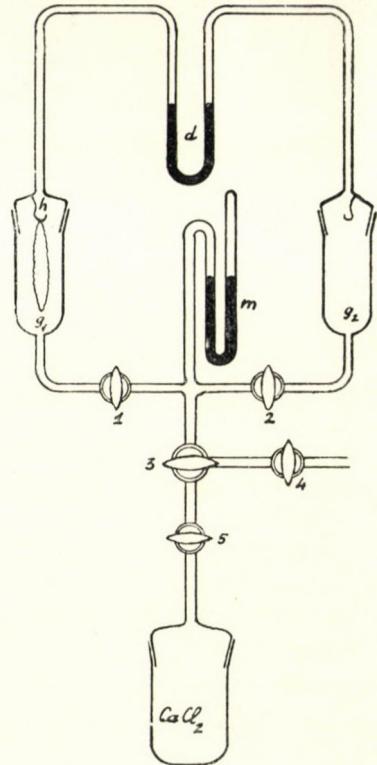


Abb. 4.



gebliebene Luft eine Rolle spielt. Um dies entscheiden zu können, wird Zapfen 5 geöffnet und der im System befindliche Wasserdampf (ausgenommen natürlich den in dem — mit Zapfen 1 verschlossen — Raum  $g_1$  befindlichen) von  $\text{CaCl}_2$  im Nu gebunden. Dementsprechend zeigt jetzt das Hauptmanometer  $m$  0 mm Hg, das Differentialmanometer 17 mm Hg, welcher Wert also dem Wasserdampf des Muskels zuzuschreiben ist. Werden noch in diesem Stadium der Muskel und am Ende seine Trockensubstanz gewogen, so haben wir das gesuchte Wertepaar in diesem Stadium des Versuches, da die relative Dampfdruckerniedrigung sich für

$$\frac{17,5 - 17,0}{17,5} \text{ ergab.}$$

Die Ergebnisse der so ausgeführten Versuche sind in Abb. 5 zu sehen, wo die Abszisse den Wassergehalt, die Ordinate die dazu gehörige rel. Dampf-

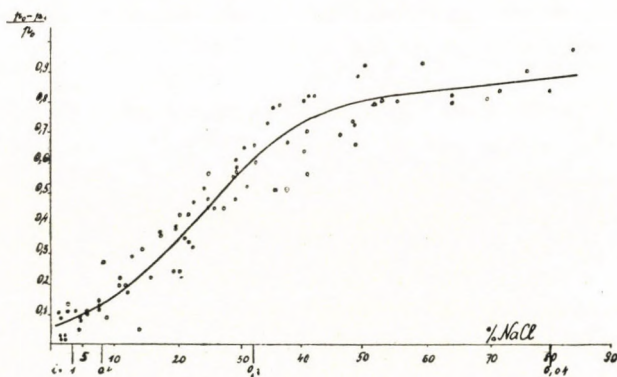


Abb. 5.

Die einzelnen Punkte bedeuten je ein Wertepaar von zusammen 13 Versuchsserien.

druckerniedrigung zeigt. Der Gang der Kurve entspricht unzweideutig der Quellung im Gegensatz zu dem flachen und geraden Verlauf einer Lösungskurve. Somit sind wir mit einer neuen Methodik zu demselben Resultat gelangt wie im vorigen Kapitel: wenn man im Laufe eines steigenden Wasserverlustes des Muskels zu einem jeden Werte des Wassergehaltes den entsprechenden Wert der rel. Dampfdruckerniedrigung bestimmt, so erhält man so grosse Werte der letzteren, dass sie nur dann zu verstehen sind, wenn man den Muskel in erster Linie als ein gequollenes System und nicht nur als ein Lösungssystem betrachtet.

Wäre also die Isotonie des Muskels gleich einem Lösungssystem einfach durch eine gewisse Konzentration von Kristalloiden — entsprechend einer 0,72%-igen NaCl-Lösung — bedingt, so liesse es sich nicht erklären, dass die rel. Dampfdruckerniedrigung bei kontinuierlichem Wasserverlust



das Mehrfache dessen ausmacht, was auf Grund jener Annahme zu erwarten wäre. Diese hohen Werte sind aber sofort verständlich, *wenn man einsieht, dass der Muskel auch ein gequollenes System darstellt, so dass in der Isotonie, d. h. Wasserbindung, d. h. Dampfdruckerniedrigung neben einer Lösung von Kristalloiden auch Quellung eine bedeutende Rolle spielt.*

Es darf nicht unerwähnt bleiben, dass wiederum die kleinsten Werte der rel. Dampfdruckerniedrigung unsicher sind. In den ersten Stadien des Versuches besitzt nämlich der Muskel noch viel Wasser, sein Dampfdruck (gesättigt) steht also dem des reinen Wassers sehr nahe. Dieser letztere Wert ist z. B. bei 20 C° 17,5 mm Hg, so wird der Muskel fast ebensoviel, z. B. 17,0, aufweisen. Somit ergibt sich die rel. Dampfdruckerniedrigung

$$\frac{17,5 - 17,0}{17,5} = \frac{0,5}{17,5}.$$

Ein Ablesefehler von 0,5 mm Hg verursacht also eine 100%-ige Änderung im Werte der rel. Dampfdruckerniedrigung. (Auch Ablesefehler bei der Temperatur!)

### 3.

Die bisher erwähnten Versuche lieferten wichtige Daten zur Unterstützung der Auffassung, dass der Muskel nicht nur als ein Lösungs-, sondern auch als ein gequollenes System zu betrachten sei. Die Versuchsergebnisse bestehen in Dampfdruckwerten, und zwar zeigt der Muskel im Laufe der Eintrocknung viel kleinere Dampfdrücke, also viel grössere rel. Dampfdruckerniedrigungen, als sie auf Grund der Konzentrationszunahme einer NaCl-Lösung erklärt werden könnten. Um letztere Folgerung durch direkte Versuche zu beleuchten, wurde eine Reihe von Versuchen ausgeführt, denen folgender Gedanke zugrunde lag: In einem Vakuumexsikkator befindet sich ein Muskel und *gleichzeitig* in einem Glasschälchen soviel *isotonische NaCl-Lösung*, als 80% des Muskelgewichtes betragen. Nach der Evakuierung sättigt sich der Raum mit Wasserdampf, indem Muskel und NaCl-Lösung in Dampfdruckgleichgewicht geraten. Wird das erreicht, bestimmt man den *verbliebenen* Wassergehalt des Muskels und der NaCl-Lösung. Daraus lassen sich die Konzentrationszunahmen der NaCl-Lösung bzw. des Muskels berechnen und diese Werte miteinander vergleichen, und zwar für Zustände gleicher rel. Dampfdruckerniedrigung. Wenn nun im Muskel das Wasser auch durch Quellung gebunden ist, so muss der Muskel einem Wasserentzug stärker widerstehen als die NaCl-Lösung; somit muss im Stadium des Dampfdruckgleichgewichtes im Muskel mehr Wasser zurückgeblieben sein als in der NaCl-Lösung.

*Methodik.* Die genaue Ausführung des Versuches geschah in folgender Weise: Ein Vakuumexsikkator aus Glas (2 oder 10 l) wird mit einem Stöpsel versehen, der 3 Bohrungen hat: 1. zur Pumpe, 2. zum Manometer, 3. für das



Thermometer. Der Muskel wird gewogen, das Gewicht sei z. B. 0,200 g. Es wird vorausgesetzt, dass die Trockensubstanz 20%, d. h. 0,040 g, das Muskelwasser 80%, d. h. 0,160 g betragen. In ein Glasschälchen werden dementsprechend 0,040 g Arena Marina und 0,160 g 0,90%-ige (!) NaCl-Lösung eingewogen, und das Ganze in den Vakuumexsikkator nahe zum aufgehängten Muskel gelegt. Es wird evakuiert und bis zum Erreichen des Dampfdruckgleichgewichtes gewartet. Das Manometer zeigt aber nur an, dass die Dampfsättigung erreicht ist; aber die Teilnahme von seiten des Muskels bzw. der Lösung an der Sättigung kann sich auch bei unverändertem Gesamtdampfdruck ändern, und zwar so, dass am Anfang weniger Wasser aus der Ringer-Lösung verdampft, was vom Muskel nur sukzessive ausgeglichen wird, und sich erst dann das wahre Dampfdruckgleichgewicht zwischen Muskel und Lösung einstellt. Um über diese Verhältnisse im Laufe des Versuches stets unterrichtet zu sein, legten wir eine zweiarmige, zu 0,003 g empfindliche Waage in den Vakuumexsikkator; der eine Waagebalken trug den Muskel, der andere das Schälchen mit der NaCl-Lösung. Am Anfang des Versuches war die Waage im Gleichgewicht; ganz zu Beginn der Evakuierung schlug die Waage nach der Seite der Lösung aus, nach einigen Minuten begann aber der Zeiger sich rückwärts nach der Seite des Muskels zu bewegen und ging kontinuierlich vor sich und zeigte so, dass der Muskel im Vergleich zur Lösung immer schwerer wird. Im Stadium des Dampfdruckgleichgewichtes wurden Muskel und Lösung gewogen; das Gewicht des Muskels sei z. B. 0,060 g, der Inhalt des Schälchens 0,045 g; das Wasser des Muskels hat also von 0,160 auf 0,020 g, das der Lösung von 0,160 auf 0,005 g abgenommen. Der Muskel erlitt also *nur* eine achtfache Einkonzentrierung, die Lösung hingegen eine 32 fache.

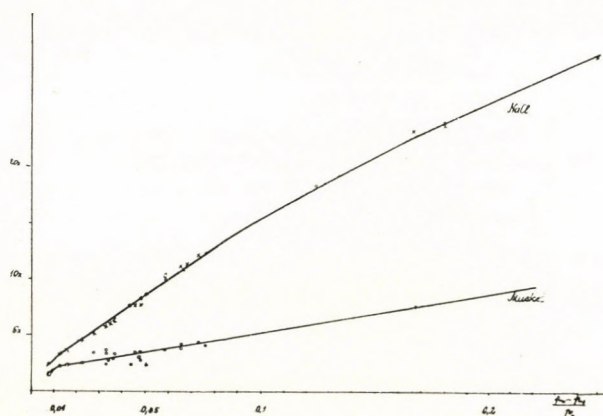


Abb. 6.

*Ergebnisse.* Aus den Versuchsdaten lassen sich Wertepaare bilden und in ein Koordinatensystem eintragen, wie dies in Abb. 6 gezeigt wird;



die Abszisse bedeutet die rel. Dampfdruckerniedrigung in den verschiedenen Gleichgewichtszuständen. Die einen Werte der Ordinate (0 — 0) zeigen an, auf welchen Teil das Muskelwasser sich vermindert hat; demgegenüber zeigen die Ordinatenwerte der anderen Kurve ( $\times$  —  $\times$ ) das Vielfache der Konzentrationszunahme der Lösung im Stadium des Dampfdruckgleichgewichtes mit dem Muskel. Durch die Versuchsergebnisse dieses Abschnittes wird also demonstriert, dass 1. bei Wasserentzug der Muskel viel weniger, die 0,90%-ige NaCl-Lösung viel mehr Wasser abgeben müssen, um miteinander ins Dampfdruckgleichgewicht zu geraten. 2. Es müsste dementsprechend die Konzentration im Muskel bei Wasserentzug viel mehr zugenommen haben, als gefunden wurde, falls der Muskel sich wie eine NaCl-Lösung verhalten würde. Somit können die Ergebnisse dieser Versuche auf Grund der Auffassung, der Muskel sei wie ein Lösungssystem (sogar von 0,90%-iger NaCl) zu behandeln, nicht erklärt werden. Vielmehr *ist es unzweifelhaft geworden, dass im Laufe einer kontinuierlichen Eintrocknung das Wasser vom Muskel fester gebunden wird, als von einer 0,90%-igen NaCl-Lösung bei gleicher Einkonzentrierung erwartet werden könnte.*

## 4.

Die oben angeführten Versuchsergebnisse, die mittels dreier prinzipiell verschiedener Methoden gewonnen wurden, stimmen in ihren Hauptzügen überein. Und zwar wird durch sie übereinstimmend gezeigt, dass die rel. Dampfdruckerniedrigung des Muskels im Laufe eines kontinuierlichen Wasserverlustes in weit grösserem Masse steigt, als dies auf Grund jener Auffassung erklärbar wäre, nach welcher die Isotonie des Muskels durch Lösung seiner gesamten Kristalloide im Muskelwasser bedingt ist. Das Muskelwasser wird somit viel fester gebunden,<sup>1</sup> als dies in irgendeiner gleichkonzentrierten Lösung geschieht. Durch die obigen Versuchsergebnisse glauben wir also die Auffassung ziemlich unterstützt zu haben, dass die Muskelsubstanz mit dem Muskelwasser gequollen ist.

Die Übereinstimmung der drei Versuchsreihen ist aber nicht nur in ihren Ergebnissen zu finden, sondern auch in ihren Mängeln. Die genauesten Daten beziehen sich nämlich auf Versuchsstadien, in denen der Muskel bereits einen bedeutenden Wasserverlust erlitten hatte. Demgegenüber bezieht sich unsere anfangs gestellte Frage darauf, welche Vorgänge die Isotonie des *ruhenden, lebenden Muskels* bedingen. *Jedenfalls kann kaum bezweifelt werden, dass Quellungsvorgänge auch im frischen Muskel eine gewisse Rolle spielen müssen, da sie sich — wie gezeigt — bei Wasserverlusten so stark bemerkbar*

<sup>1</sup> Um Missverständnissen vorzubeugen, muss betont werden, dass in dieser Arbeit das Gebundensein des Wassers klar gefasst und daher mit der rel. Dampfdruckerniedrigung gemessen wird. Damit erübrigen sich nutzlose und weitschweifige Ausführungen und Besprechungen.



*machen*. Wenn man aber den Standpunkt einnimmt, dass der Muskel als ein gequollenes System betrachtet werden soll, so scheint es erforderlich, zu versuchen, die bekannten quantitativen Gesetze der Quellung auf den Muskel anzuwenden.

Die Ausführung dieser Aufgabe erfordert es, einige speziellere Einblicke in die Struktur des Muskels zu machen. Bisher wurde nämlich der Muskel summarisch behandelt, in Wirklichkeit aber ist er kein einheitlicher, homogener Körper (s. *Overton*), sondern es können mindestens drei Strukturbestandteile unterschieden werden: 1. der interstitielle Raum, 2. das Sarkoplasma, 3. die Fibrillen. Da der Froschmuskel einen Chlorgehalt von etwa  $0,45\%$  aufweist, andererseits alles Cl als ausserfaserisch betrachtet wird und weiterhin der Chlorgehalt des Plasmas etwa  $3\%$  beträgt, so errechnet sich der interstitielle Raum für etwa

$$\frac{0,45}{3} \cdot 100 = 15\% \text{ des ganzen Muskels.}$$

Dieser Teil des Muskels kann als ein Lösungssystem gelten mit einem Salzgehalt, welcher dem des Plasma entspricht, also ungefähr entsprechend der isotonischen  $0,72\%$ -igen NaCl-Lösung. Sarkoplasma und Fibrillen sind nicht so leicht zu behandeln: beim Froschmuskel wollen wir den Anteil der Fibrillen auf  $40\%$ , den des Sarkoplasmas auf  $45\%$  einschätzen. Wenn also  $M$  den ganzen Muskel bedeutet, so ist

$$M = I + S + F \text{ und } M = T + W \text{ (Trockensubstanz + Wasser)}$$

$$I = \frac{15}{100} = w, \text{ in erster Annäherung ähnlich der } 0,72\% \text{-igen NaCl-Lösung,}$$

fast alles als Wasser betrachtet;

$$S = \frac{45 M}{100} = s \text{ (Wassergehalt)} + s' \text{ (Trockensubstanz);}$$

$$F = \frac{40 M}{100} = f \text{ (Wassergehalt)} + f' \text{ (Trockensubstanz).}$$

$$\text{Z. B. (Nr. 62, Abschn. 2) } M = 0,180 \text{ g; } T = 0,033 \text{ g; } F = 0,180 \frac{40}{100} = 0,072 = f + f'$$

Die gesamte Trockensubstanz beträgt  $T = 18,3\%$ , daraus das Eiweiss etwa  $16\%$ ; die Hälfte davon muss den Fibrillen zugeschrieben werden (die Hälfte des Eiweiss ist Myosin und befindet sich in den Fibrillen), somit ist

$$f' = 0,033 \frac{8}{18,3} = 0,014 \text{ g, daher } f = 0,072 - 0,014 = 0,058 \text{ g und der}$$



Wassergehalt  $i = \frac{0,058}{0,014} = 4,1$ . Erst jetzt kann die obige Frage in Angriff genommen werden.

A) Nach Katz lässt sich der Dampfdruck als Funktion des Wassergehaltes in der Form aufschreiben:

$$R \cdot T \ln \frac{p_1}{p_0} = - \frac{ab}{(b+i)^2},$$

wobei  $R$  die allgemeine Gaskonstante,  $T$  die absolute Temperatur in  $^{\circ}\text{C}$ ,  $p_1$  den erniedrigten-,  $p_0$  den normalen Dampfdruck,  $i$  den Quellungsgrad, endlich  $a$  und  $b$  Konstanten bedeuten. Die folgende Tabelle 3 enthält einige

TABELLE 3.  
Versuch N<sup>o</sup> 62. (Abschnitt 2)

No. des Stadiums	Gewicht des Muskels M in mg	Wassergehalt in mg M — T	C°	$p_0$	$p_1$	$i = \frac{f'}{f}$	$\frac{p_0 - p_1}{p_0}$
				mm Hg			
2	55,0	22,0	17,8	15,3	14,0	—	0,09
3	41,8	8,4	19,0	16,5	12,5	—	0,24
4	38,4	5,0	17,9	15,4	9,5	0,343	0,38
5	36,0	2,6	18,0	15,5	4,5	0,178	0,70
6	35,4	2,0	17,6	15,1	3,0	0,137	0,80
7	34,8	1,4	17,5	15,0	1,5	0,096	0,90

Daten vom Versuch. Nr. 62 (Abschn. 2). Um die  $i$ -Werte zu bestimmen, mussten die Ergebnisse der Abschn. 1 und 3 in Betracht gezogen werden. Dort hat es sich gezeigt, dass die NaCl-Lösung schon eingetrocknet ist, wenn der Muskel noch Wasser enthält. Das ist auch natürlich, da die höchste rel. Dampfdruckerniedrigung der gesättigten NaCl-Lösung im Verhältnis zur rel. Dampfdruckerniedrigung ist klein, welche bei Quellung infolge fortschreitender Konzentrationszunahme auftritt. So kann z. B. im Stadium 4 (Versuch Nr. 62), wo die rel. Dampfdruckerniedrigung 0,4 beträgt, eine NaCl-Lösung gar nicht vorhanden sein, somit war alles Wasser aus  $J$  voraussetzlich bereits verdampft. (Vergl. auch Abb. 1.) Es entsteht nun die weitere Frage, wie sich das zurückgebliebene, 0,005 g betragende Wasser zwischen  $S$  und  $F$  verteilt. Um die weitere Rechnung ausführen zu können, nehmen wir vorläufig an, dass in diesem Stadium fast alles Wasser sich in  $F$  befindet. Wir schreiben nämlich nur den Fibrillen eine entsprechende Struktur zu, nicht aber dem Sarkoplasma, welches als eine Kolloidlösung betrachtet wird. Da im Versuch (Nr. 62)

$$S = 0,180 \frac{45}{100} = 0,081 \text{ g und } s' = 0,014 \text{ g beträgt,}$$

kann  $S$  als eine Kolloidlösung mit  $(81 : 14 = 100 : x)$  17% Eiweissgehalt gelten. Um eine vorläufige Orientierung zu gewinnen, haben wir aus einem Hühnerei (durch ein Loch in der Schale) mehrere Proben von Eiweiss mit der Pipette herausgehoben und ihren Dampfdruck in verschiedenen Stadien der Eintrocknung bestimmt. Die Ergebnisse sind in Abb. 2 eingezeichnet. Es ist zu sehen, dass die Eiweisslösung eine viel kleinere rel. Dampfdruckerniedrigung aufweist als der Muskel; es schien somit angebracht — vorläufig — die obige Annahme zu machen und in den fortgeschrittenen Stadien des Wasserverlustes das zurückgebliebene Wasser als Quellungswasser der Fibrillen in Rechnung zu ziehen.

Wird nun die *Katzsche* Gleichung auf diese Versuchsergebnisse angewendet, so lassen sich vor allem die Konstanten bestimmen, und zwar aus den Daten je zweier Versuchsstadien. Die folgende Tabelle 4 zeigt die so gewonnenen Werte; in Anbetracht der zahlreichen Ungenauigkeiten und

TABELLE 4.

Versuchsstadien N <sup>o</sup>	b	$\frac{a}{k}$
4—5	0,172	0,374
4—6	0,157	0,385
4—7	0,144	0,40
5—6	0,115	0,39
5—7	0,119	0,387
6—7	0,11	0,386

Unsicherheiten in den Werten (und selbst in der Ableitung) wollen wir die Konstanten als annähernd richtig betrachten und zur weiteren Rechnung verwenden.\* Unsere nächste Frage bezieht sich darauf, ob mit Hilfe dieser Daten die *rel. Dampfdruckerniedrigung der Fibrillen des lebensfrischen Muskels*, als einer Quellungerscheinung, sich mathematisch bestimmen lässt. Als Ausgangswerte sollen die folgenden in Rechnung gezogen werden:  $a = 0,39k$ ,  $b = 0,12$  und  $i = 4,1$ , somit ist

$$k \log \frac{p_0}{p_1} = \frac{k \cdot 0,39 \cdot 0,12}{4,22} \text{ und daraus}$$

$$\frac{p_0 - p_1}{p_0} = 0,006$$

Dies ist sicherlich ein zu hoher Wert im Vergleich zu den 0,0042 des ruhenden Muskels; hätte man nun den Fibrillenanteil des Muskels nicht mit 40%, sondern mit 43% (gleich dem Sarkoplasma) in Rechnung gezogen, so würde

die Rechnung  $\frac{p_0 - p_1}{p_0} = 0,005$  liefern. Wir glauben somit, dass diese Rech-



nung trotz den zahlreichen Schwierigkeiten und Unsicherheiten als eine erste Annäherung doch nicht ganz wertlos ist.<sup>1</sup> Durch die Rechnungen dieses Abschnittes wird u. E. die Auffassung unterstützt, dass in der Wasserbindung des Muskels Quellungsvorgängen eine wichtige Rolle zukommt.

## 5.

Die bisher besprochenen Angaben stammen von Versuchen, in welchen der Wassergehalt des Muskels schrittweise entzogen wurde; dabei erwiesen sich gerade jene Werte als ziemlich ungenau, die sich auf die Anfangsstadien des Wasserverlustes bezogen, somit dem Normalzustand des Muskels am nächsten waren. Unsere Grundfrage bestand jedoch darin, durch welche Vorgänge im lebensfrischen Muskel die Isotonie bedingt bzw. das Wasser gebunden wird. Die bisher besprochenen Ergebnisse lassen wohl die Deutung zu, dass im Interstitium ein Lösungsvorgang — gleich einer 0,72%-igen NaCl-Lösung — die Isotonie sichert, im Fibrillenanteil hingegen die entsprechende rel. Dampfdruckerniedrigung hauptsächlich durch Quellung ( $cca\ i = 4$ ) bedingt wird. Wie das Dampfdruckgleichgewicht des Sarkoplasmas mit den beiden anderen Gewebeelementen zuwege gebracht wird, harrt noch einer speziellen Untersuchung.

Im Sinne der obigen Ausführungen können also Versuche, in welchen kleinere Schwankungen des Wassergehaltes *um den normalen Ruhegehalt* vorkommen, aus den Betrachtungen nicht wegbleiben, wenn die Frage in den Vordergrund gestellt wird, wie die Isotonie des normalen Muskels aufrechterhalten wird. Derartige Versuche, welche also kleinere Zu- bzw. Abnahmen des Wassergehaltes des Muskels bewerkstelligen, sind bekanntlich leicht auszuführen, indem die Muskel entweder mit gewissen Lösungen durchströmt oder aber in diese gelegt werden.

Zuerst mögen jedoch die Arbeiten von *Loeb—Cook* (9) und *Hill* (10) erwähnt werden, nach welchen die Konzentration bzw. die Dampfdruckerniedrigung des ermüdeten bzw. starren Muskels um viel mehr zunimmt, als sich aus den bekannten chemischen Spaltprodukten berechnen lässt. Es wurde nun von uns darauf hingewiesen, dass die gebildete Milchsäure von *Hill* zwar *osmotisch* in Betracht gezogen, aber ihre quellungsfördernde also dampfdruckerniedrigende Wirkung ausser acht gelassen wurde. Es wurden andererseits schon in unseren früheren Arbeiten ältere Versuchsergebnisse zitiert und eigene beschrieben, welche die quellungsfördernde Wirkung der Milchsäure zeigten. Diesmal sollen Versuche folgen, durch welche diese Verhältnisse vielleicht besser beleuchtet werden können.

<sup>1</sup> Es soll noch erwähnt werden, dass die Probleme der Muskelquellung auch mit einer Messung der Volumverminderung bzw. Wärmebildung bearbeitet werden kann. Diesbezügliche Untersuchungen wurden von uns schon vor etwa 20 Jahren in Angriff genommen, doch konnten wir infolge der damaliger ungünstigen äusseren Verhältnisse nur Anfangsergebnisse erzielen.



Es ist bekannt, dass der Muskel in hypertonische Lösungen Wasser abgibt; enthielt aber im Parallelversuch die hypertonische Lösung (ohne  $\text{NaHCO}_3$ ) noch z. B.  $1,5\text{‰}$  Milchsäure (osmotisch unbedeutend), so wog der gleichzeitig darin gelegte Parallelmuskel schon nach 1 St. mehr als der andere. Es schien somit, dass der Muskel aus einer Lösung, in welche er osmotisch Wasser abgibt, durch Quellung Wasser aufnehmen kann. Es wurden nun die linken Sartorien 3 Frösche in 2R (doppelt konzentrierte Ringer-Lösung), die rechten in 2R (ohne  $\text{NaHCO}_3$ ) +  $1,5\text{‰}$  Milchsäure gelegt. Die linken Sartorien gaben in 7 bis 10 St. Wasser ab, die rechten hingegen nahmen Wasser auf. Ähnliche Versuche mit 3R führten zum Ergebnis, dass zwar alle Muskeln in 14 St. Wasser abgaben, aber die in Säure gelegten nur etwa die Hälfte. Nach diesen Versuchen wurde zum Versuch eine 2,5 R-Lösung angewendet; die Ergebnisse sind in der folgenden Tab. 5 zusammengestellt. Es wird durch diese Ergebnisse

TABELLE 5.

Wasserabgabe (—) bzw. -zunahme (+) von Sartorien in mg I. 2,5 Ringer II. 2,5 R +  $1,5\text{‰}$  Milchsäure

Anfangsgewicht in mg	Temperatur C°	Gewichtsänderung nach Stunden				
		2.	5.	8.	11.	21.
I. 101 .....	19	—	—24	—23	—28	—
II. 107 .....			—15	—7	—5	
I. 96 .....	19	—	—31	—29	—33	—
II. 103 .....			—11	—1	+7	
I. 65 .....	19	—	—13	—16	—15	—
II. 68 .....			—5	—4	+1	
I. 83 .....	1	—12	—11	—8	—8	—4
II. 89 .....		—4	—2	+4	+13	+11
I. 117 .....	1	—22	—24	—26	—20	—21
II. 119 .....		—14	—4	+2	+7	+10
I. 114 .....	1	—27	—29	—28	—24	—17
II. 112 .....		—22	—14	—5	+1	+6

In diesen Versuchen wurden die Muskeln mit Filterpapier abgetupft und mit der Torsionswaage gewogen.

darauf hingewiesen, dass die osmotischen und Quellungsvorgänge im Muskel nicht gleichzeitig verlaufen, da ja auch die in Säure gelegten Muskeln zuerst Wasser abgeben und erst dann Wasser aufzunehmen beginnen. Zur Klärung dieser Verhältnisse wurden diese Versuche wiederholt und die Gewichtsänderungen in Intervallen von 1—2—3—5—10 Minuten festgestellt. Um die möglichst schnelle Arbeit zu sichern, tupften wir den Muskel nicht ab, sondern zogen



nur die beiden Seitenflächen den Glasrand entlang, um das adhärende Wasser zu entfernen. Diese Methode bringt zwar eine Ungenauigkeit von etwa  $\pm 5$  mg in die einzelnen Daten (Torsionswaage) hinein, durch welche aber einerseits der Gang der Wasserbindung gar nicht entstellt wird, andererseits unnötiger Zeitverlust und unkontrollierbare Beeinflussung der Versuchsergebnisse vermieden werden.

Ein Beispiel für diese Versuche Nr. 12) liefert Abb. 7., im Prinzip verliefen alle Versuche (20 Parallelversuche) ähnlich. Wie zu sehen, ist die anfängliche Wasserabgabe des Muske's an die 2,5 R-Lösung in den ersten

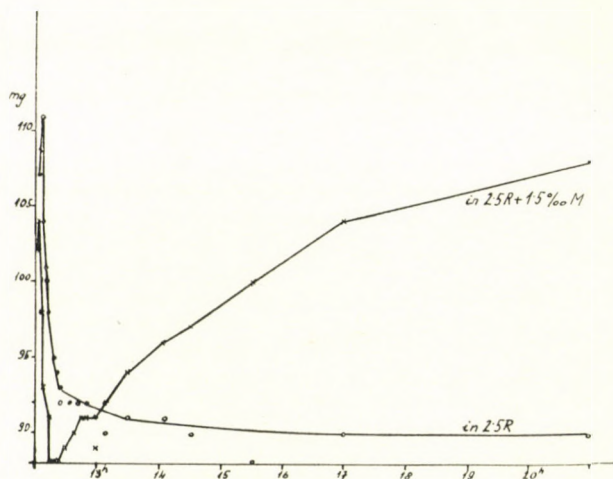


Abb. 7.

15 bis 30 Min. beendet und es ist von diesem Gesichtspunkt aus kein Unterschied zwischen den Parallelen zu finden, trotzdem der eine Sartorius sich in einer saueren Lösung befand. Nachdem aber der anfängliche etwa 15%-ige Wasserverlust in beiden Muskeln gleichzeitig und gleichmässig abgelaufen ist, beginnt der in Säure aufgehängte Sartorius wiederum sein Gewicht zu vergrößern, was zweifellos der zunehmenden Quellung, der „Säurequellung“, zuzuschreiben ist.

Aus dem zeitlichen Verlauf dieser Wasserwanderung ist ersichtlich, dass die Wasserabgabe eines etwa 0,1 g wiegenden Sartorius in die 500 bis 1000 fache Menge einer 2,5 R-Lösung rasch und unabhängig davon erfolgt, was später mit dem Muskel geschieht, ob später infolge der in der Lösung anwesenden Milchsäure eine grössere Quellung eintritt, ob wegen Abwesenheit von  $\text{NaHCO}_3$  die sich entwickelnde Milchsäure eine — langsamere — Quellung verursacht oder aber der Muskel mehrere Stunden hindurch sein Gewicht unverändert beibehält.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Die 2,5 R-Lösung zeigt ein  $\text{pH} = 8$ ! (ebenfalls quellungsfördernd!)



Die anfängliche Wasserabgabe in der 2,5 R setzt sich nun noch weiter fort, wenn der „Säure“-Muskel schon Wasser aufnimmt; somit sind in dieser 2. Periode des Versuches wahrscheinlich auch die Fibrillen einbezogen. Nach Ablauf der ersten 30 bis 60 Minuten kommt die dritte Periode, in welcher das Gewicht des „2,5 R-Muskels“ mehrere Stunden lang unverändert bleiben kann, während der „saure“ Muskel fortfährt, Wasser aufzunehmen; d. h. die Quellung der Fibrillen geht infolge der anwesenden Säure weiter vor sich, bis das Gewicht des Muskels etwa seinen ursprünglichen Wert erreicht. Es scheint also, dass unter diesen Umständen die Quellungsbereitschaft des Muskels etwa der osmotischen Wasseranziehung der 2,5 R-Lösung für viele Stunden die Waage halten kann.

Diese Versuche liefern also die Tatsache, dass ein Sartorius von einer osmotisch gleichen, aber sauren Lösung Wasser aufnimmt, wenn der parallele noch (in der 2. Periode) Wasser abgibt. Bis durch weitere, besonders histologische Versuche die hier obwaltenden Verhältnisse geklärt werden können, scheint uns die Auffassung begründet zu sein, dass die schnelle Wasserabgabe osmotisch, die ihr folgende Wasseraufnahme hingegen durch Quellung bedingt ist.

### *Besprechung*

Die Auffassung, der Muskel entspreche in seinem „osmotischen“ Verhalten einer 0,72%-igen NaCl-Lösung, musste bereits nach den Arbeiten besonders von *Durig* (2), *Overton* (3) und *Fischer* (4) mehr als zweifelhaft erscheinen. Andererseits darf nicht verschwiegen werden, dass die Frage ziemlich verwickelt ist und zu ihrer Lösung noch viele Seiten des Problems erforscht werden müssen, so z. B. die mikroskopische Beobachtung von lebenden Muskeln im Laufe von Wasserabgabe bzw. -aufnahme. Jedenfalls kann anerkannt werden, dass die bisher von den Verfassern erzielten Ergebnisse keine bindenden Beiträge zu Gunsten der Quellung als eines Hauptfaktors in der Wasserbindung des Muskels enthielten. Durch die hier dargestellten Versuche wurde einerseits die Dampfdruckkurve des Muskels als eine typische Quellungskurve erwiesen, andererseits gezeigt, dass bei fortschreitendem Wasserverlust der Muskel mehr Wasser enthält, also weniger abgibt als die Ringer-Lösung, indem sich die beiden miteinander im Dampfdruckgleichgewicht befinden. Daraus folgt, dass in der Dampfdruckerniedrigung, d. h. in der Isotonie des Muskels neben der Lösung auch noch andere Vorgänge, wahrscheinlich die Quellung, eine bedeutende Rolle spielen müssen. Es scheint, dass der interstitielle Raum tatsächlich einer 0,72%-igen NaCl-Lösung entspricht, während die Fibrillen in erster Linie durch Quellung die Isotonie aufrechterhalten. (Die Verhältnisse im Sarkoplasma sollen noch weiter geklärt werden.)

Nimmt aber nur ein Teil des Muskels an der Isotonie mittels Lösung teil (die Fibrillen mittels Quellung), so muss nur *in diesem Teil* eine — der



0,72%-igen NaCl-Lösung — entsprechende Konzentration vorhanden sein, wozu natürlich viel weniger diffusible Substanz erforderlich ist als für den ganzen Muskel. Setzen wir nämlich voraus, in einem Glas befinde sich eine 0,72%-ige NaCl-Lösung und emulgiertes Öl oder suspendierte Kohle oder etwas ähnliches, das keinen Dampfdruck ausübt. Der Dampfdruck des ganzen Systems wird natürlich der 0,72%-igen NaCl-Lösung entsprechen, unabhängig davon, welchen Teil des ganzen Systems die NaCl-Lösung ausmacht. Sei dieser Teil z. B. 20% des Ganzen; in diesem Falle ist natürlich viel weniger NaCl nötig, als wenn das ganze Volumen mit der NaCl-Lösung gefüllt wäre. Und auch in dem Falle bestehen ähnliche Verhältnisse, wenn diejenigen Teile des Systems, die in der NaCl-Lösung dispergiert sind, zwar ebenfalls einen Dampfdruck besitzen, aber infolge eines anderen Vorganges, als es das Lösen von NaCl ist. Üben also die Fibrillen *infolge Quellung* einen — dem des Interstitiums gleichen — Dampfdruck aus, so zeigt zwar der ganze Muskel Isotonie, d. h. gleiche Dampfdruckerniedrigung mit einer 0,72%-igen NaCl-Lösung, aber ohne dass die Fibrillen ebenfalls eine entsprechende Menge freie Kristalloide enthalten würden. *Es ist also sicher fehlerhaft, aus der Isotonie zu folgern, dass sie in allen Teilen des Muskels durch Lösung von Elektrolyten gesichert wird; es ist daher ebenso fehlerhaft, wenn aus der Isotonie auf die freie Diffusibilität aller Muskel-Kristalloide gefolgert wird.*

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. In den Dampfraum von Schwefelsäurelösungen verschiedener Konzentration hingen wir Sartorien auf und bestimmten so die Kurve rel. Dampfdruckerniedrigung-Wassergehalt. Die Kurve ist für Quellung charakteristisch. Die Ergebnisse ähnlich ausgeführter Versuche mit NaCl-Lösung bzw. Eiereiweiss weichen von den obigen ab und sind für Lösungsvorgänge typisch.

2. In einem zu diesem Zwecke verfertigten Differentialmanometer massen wir den Dampfdruck des Muskels, während wir den Muskel sukzessive eintrockneten. Die mittels dieser direkten Dampfdruckwerte bestimmte Kurve der rel. Dampfdruckerniedrigung als Funktion des Wassergehaltes entspricht derjenigen des 1. Abschnittes und ist für Quellung charakteristisch.

3. Muskel und isotonische NaCl-Lösung kamen in einem Vakuumexsikkator ins Dampfdruckgleichgewicht, nachdem der Exsikkator evakuiert wurde. In allen Fällen, wenn das Gleichgewicht erreicht wurde, enthielt der Muskel mehr Wasser, gab also weniger Wasser ab als die NaCl-Lösung. Sein Wasserbindungsvermögen wuchs somit bei fortschreitendem Wasserverlust in höherem Masse, als dasjenige der Lösung. Auch dies deutet auf die Rolle der Quellung im Muskel.

4. Die Ergebnisse der obigen drei mit verschiedener Methodik ausgeführten Versuchsreihen weisen darauf hin, dass der Muskel bei fortschreiten-



dem Wasserverlust viel eher das Verhalten eines Quellungs- als eines Lösungssystems zeigt. Die Versuchsdaten entsprechen den mathematischen Gesetzen der Quellung; so ergibt sich für die Fibrillen im frischen Zustande  $i = 4,3$

und  $\frac{p_0 - p_1}{p_0} = \text{etwa } 0,005$ .

5. Wird der eine von den beiden Sartorien eines Frosches in  $2,5R$  (2,5-fach konzentrierter Ringer-Lösung), der andere in  $2,5R$  (ohne  $\text{NaHCO}_3$ ) + +  $1,5\%_{00}$  Milchsäure aufgehängt, so verlieren beide gleichmässig in den ersten 20 bis 30 Min. etwa 15% ihres Gewichtes. Danach — in der zweiten Periode des Versuches — beginnt der „Säure“-Muskel wiederum Wasser aufzunehmen, während der andere in der folgende  $\frac{1}{2}$  St. einen weiteren, kleineren Wasserverlust erleidet, später aber sein Gewicht fast unverändert beibehält. Die Tatsache, dass der „Säure“-Muskel aus einer  $2,5R$  Lösung Wasser aufnehmen kann, in welche der parallele noch Wasser abgibt, zeigt, dass der Muskel auch im frischen Zustande quellungsfähig ist.

In Anbetracht der Struktur des Muskels schreiben wir die Quellungs-fähigkeit hauptsächlich den Fibrillen zu und weisen die Auffassung zurück, dass die Isotonie (oder Wasserbindung oder rel. Dampfdruckerniedrigung) des Muskels als eines einzigen homogenen Lösungssystems — entsprechend einer 0,72%-igen NaCl-Lösung — beschrieben bzw. erklärt werden kann. Demgegenüber scheint es sehr wahrscheinlich zu sein, dass die Isotonie im interstitiellen Raum ausschliesslich durch Lösung (cca 0,7% -NaCl), in den Fibrillen hauptsächlich durch Quellung ( $i = 4$ ), im Sarkoplasma vielleicht durch beide bedingt ist.

Wenn demnach die Isotonie nur in einem Teile des Muskels durch Lösung, genauer gesagt durch Ionen gesichert wird, so folgt daraus, dass nur dieser Teil die entsprechende Menge der Ionen, d. h. eine der 0,7%-igen NaCl-Lösung entsprechende Zahl von frei diffusiblen Ionen enthalten muss. Jener Teil des Muskels hingegen, wo die Isotonie durch Quellung bedingt wird, muss natürlich keine diffusiblen Kristalloide enthalten. Daraus folgt, dass zur Isotonie des ganzen Muskels nicht alle Muskel-Kristalloide in frei diffusiblem Zustande sein müssen. Somit sind jene ziemlich oft anzutreffenden Behauptungen, alle anorganischen Bestandteile des Muskels müssen als frei diffusible Ionen vorhanden sein, um die Isotonie des Muskels erklären zu können, unbegründet.

#### LITERATUR

1. Höber R. Phys. Chem. of cells and Tissues. Philadelphia. 1945.
2. Durig O., Pflügers A. 85. 401. 1901.
3. Overton E., Pfl. A. 92. 115. 1902.
4. Fischer M. H., Das Ödem. Dresden. Th. Steinkopf. 1910.
5. Ernst E., Pfl. A. 213., 131., 133. u. 144. 1926.  
— — u. Czimber K., Pfl. A. 228., 683. 1931.  
— — u. Fricker J., Pfl. A. 234., 360. 1934.
6. Rubinstein D. L., Obschtschaja fisiologia. Moskau. 1947. 81.



7. *Shmith E. C. and Moore*, Proc. Roy. Soc. B. 106., 122. 1930.
8. *Katz I. R.*, Kolloidchem. Beihefte. 9., 1. 1916.  
Ergebnisse. Exakt. Naturw. 3., 316. 1924.
9. *Loeb J. — (Cook)*, Pfl. A. 69., 1. 1898.
10. *Hill A. V.*, Proc. Roy. Soc. B. 105., 283. 1929.  
106., 445., 477. 1930.

Эрне Эрнст, Йозеф Тиди, Альфонс Захорчек (Биофизический Институт, Печ)

## „СОСТОЯНИЕ СВЯЗАННОСТИ МЫШЦЕВЫХ ЭЛЕКТРОЛИТОВ И МЫШЦЕВОЙ ВОДЫ“

### Резюме

1. В пространстве заполненном парами раствора серной кислоты различной концентрации, мы подвесили сартории лягушек и определили таким образом кривую понижения давления пара — содержания воды. Кривая характерна для набухания. Результаты аналогичным образом произведенных опытов с раствором NaCl и яичным белком отличаются от вышеприведенных и типичны для явлений связанных с растворами.

2. Мы измерили дифференциальным манометром, построенным для этой цели, давление пара мускула, в течение постепенного его высушивания. Определенная, посредством этих единиц давления пара, кривая, относ. понижения давления пара, в качестве функции содержания воды — соответствует кривой п. 1-ого резюме и характерна для набухания.

3. Мускул и изотонический раствор NaCl пришли в состояние равновесия давления пара в вакуумэкссикаторе, перед того, что эксикатор был опорожнен. Во всех случаях, когда было достигнуто равновесие, мышца содержала больше воды, значит, потеряла меньше воды, чем раствор NaCl. Ее способность связывания воды возростала, следовательно, при прогрессивной утрате воды, в более сильной степени, чем та-же способность раствора. Это тоже указывает на значение набухания в мускуле.

4. Результаты вышеприведенных трех рядов опытов, произведенных различными методами, показывают, что мускул, при прогрессивной потере воды, проявляет скорее основные черты системы набухания, чем растворной системы. Данные опытов соответствуют математическим законам набухания; и так мы имеем для мышечных волокон (fibrilla) в свежем состоянии  $i = 4,3 \frac{p_0 - p_1}{p_0}$  и  $p_0 - p_1 = \text{около } 0.005$ .

5. Если подвесить один из обоих сарториев лягушки в 2,5 R (2,5 раза концентрированном растворе Рингера), другой в 2,5 R (без  $\text{NaHCO}_3$ ) + 1,5‰ молочной кислоты, то оба теряют одинаково, в течение первых 20 до 30 минут, около 15% своего веса. После этого — во время второго периода опыта — „кислый“ мускул начинает опять впитывать воду, тогда как другой показывает, в течение следующего получаса, дальнейшую незначительную потерю воды, позже, однако, сохраняет уже свой вес почти без перемен. Факт, что „кислый“ мускул в состоянии впитывать воду из раствора 2,5 R, в каковой параллельная мышца еще воду выделяет, показывает, что мышца и в свежем состоянии способна набухать.

Ввиду строения мускула, мы приписываем способность набухания, главным образом, мышечным волокнам (fibrillae) и отрицаем утверждение, будто изотония (или связывание воды, или относ. понижение давления пара) мускула, как единой гомогенной растворной системы, — может быть объяснена и описана, соответственно 0,72%-ому раствору NaCl. Напротив, кажется весьма вероятным, что изотония обусловлена в промежуточном пространстве исключительно раствором (около 0,7 NaCl) в волокнах (fibrillae) главным образом набуханием ( $i = 4$ ), в саркоплазме, быть может, обоими.

Если следовательно, наличие изотонии обусловлено только в части мускула раствором, вернее сказать, ионами, то значит, только эта часть должны содержать соответствующее



количество ионов, т. е. соответствующее 0,7%-ому раствору NaCl число способных свободно рассеиваться ионов. Наоборот, та часть мускула, где изотония обусловлена набуханием конечно не должна содержать способных рассеиваться кристаллоидов. Из этого следует, что для изотонии всего мускула не все мышечные кристаллоиды должны быть в состоянии свободной рассеиваемости. Тем самым неправильны, довольно часто встречаемые, утверждения, что все неорганические части мышц должны быть ионами, способными свободно рассеиваться, для того, чтобы можно было объяснить изотонию мускула.

#### Литература

1. Р. Хебер: *Phys. Chem. of cells and Tissues* Philadelphia 1945.
2. О. Дуринг: *Pflügers A.* 85. 401. 1901.
3. Е. Овертон: *Pfl. A.* 92. 115. 1902.
4. М. Х. Фишер: „*Das Ödem*“. Dresden. Th. Steinkopf 1910.
5. Е. Эрнст: *Pfl. A.* 213, 131, 13<sup>1</sup>, 144. 1926.  
К. Чимбер: *Pfl. A.* 228, 683. 1931.  
И. Фриккер: *Pfl. A.* 234, 360. 1934.
6. Д. Л. Рубинштейн: „*Общая Физиология*“. Москва 1947. 81.
7. Е. Ц. Смес и Мур: *Proc. Roy. Soc. B.* 106, 122. 1930.
8. И. Р. Катц: *Kolloidchem. Beihefte* 9, 1. 1916.
9. И. Лэб (Кук): *Pfl. A.* 69, 1. 1898.
10. А. В. Хилль: *Proc. Roy. Soc. B.* 105, 283. 1929. 106, 445, 477. 1930.



# VARIABLE-CAPACITY APPARATUS FOR RAPID ELECTRO-DIALYSIS

By:

*Alajos Nowotny*

(Publication of the Institute No. I. for Pathological Anatomy and Experimental Cancer Research, University Budapest.)

(Received: 21. III. 1950.)

The speed of electro-dialysis (ED) is mainly determined by the following factors: *a)* intensity of the electric field, *b)* temperature, *c)* magnitude of dialysing surface and *d)* magnitude of the difference in concentration on the two sides of the dialysing membrane.

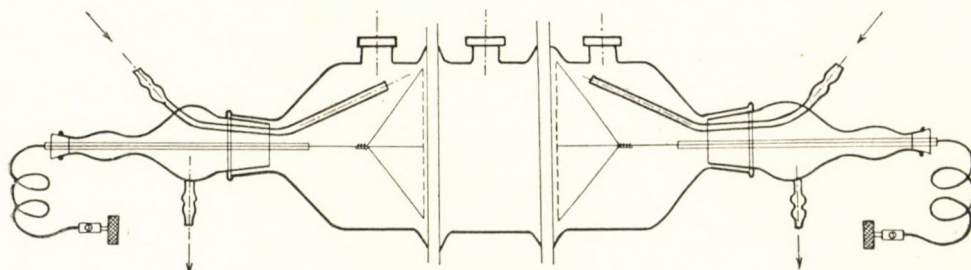


Fig. 1.  
Pauli type of apparatus. Scale: 1 : 4.

Of the various kinds of electro-dialysing apparatus known up to now and described in literature (1—6) the type most universally used is the Pauli type of equipment<sup>7</sup> (see fig. 1), whilst for the purposes of rapid ED only a single kind of apparatus was employed up to now, viz. the apparatus designed by Brintzinger and Rothaar (8,9) (see fig. 2).

These types of apparatus are, on the one hand, expensive to manufacture and their use is connected with many difficulties, whilst, on the other hand, they cannot be employed for the electro-dialysis of small quantities of liquid. Neither in the case of the Brintzinger and Rothaar, nor in the case of the Pauli apparatus is the capacity of the apparatus variable; in the case of these types of apparatus the lower limit is about 100 cm<sup>3</sup>. Thus micro-tests or semi-micro tests cannot be carried out with their aid. Another serious



drawback of these types of apparatus is that it is only at a temperature of  $40^{\circ}\text{C}$  that they function with a satisfactory speed, which temperature, in the case of bio-colloids, may already cause denaturation. With the aid of the Brintzinger and Rothaar rapid ED apparatus, various albumen-containing extracts were cleansed of their content of electrolyte by the authors. By means of the permanent mixing of the liquid to be dialysed, they succeeded in considerably reducing the time required for dialysis. Mixing was provided

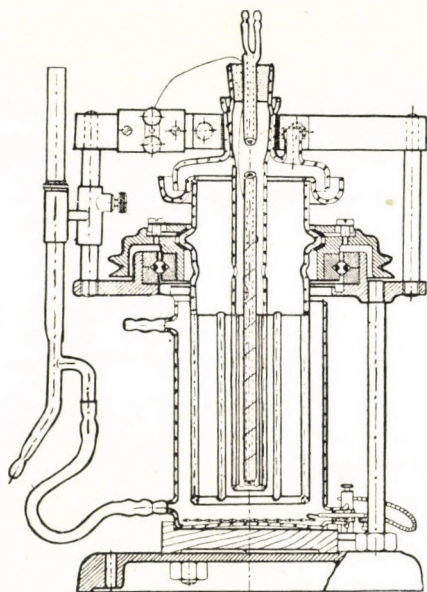


Fig. 2.  
Brintzinger and Rothaar type of  
rapid ED apparatus. Scale 1 : 4.

for in these types of apparatus by rotating, by means of an electric motor, the whole external dialysing membrane itself as well as the frame holding the membrane, the upper part of the said frame moving on ball-bearings. In any kind of apparatus a rotating part, particularly if it rotates also the thin dialysing membrane, means in itself a considerable amount of difficulty in operation, as it may easily happen, that the membrane becomes torn during rotation owing to its having become loosened, or owing to friction, in which case not only the experiment itself fails, but the whole material to be dialysed is lost as well. Moreover, the manufacture of these types of apparatus is rather expensive, partly owing to the platinum electrodes employed in them and partly owing to the complicated design of the apparatus.

Taking these points of view into consideration, I constructed a type of apparatus for rapid ED, the detailed drawing and description of which are given below (see fig. 3, „A“).

*Description of the apparatus :* 1. External glass vessel with foot, with two perforations on the side of the vessel. 2. External glass dialysing vessel with flange below, on which latter the dialysing membrane is fitted with the aid of a rubber ring or a thin thread. 3. Internal glass dialysing vessel capable of being sunk into the external glass dialysing vessel, with flange below for the fixing of the other dialysing membrane. 4. Anode: an electrode made of a carbon bar. 5. Cathode: an electrode made of a carbon sheet. 6. Anode space, capable of being scavenged with water. 7. Dialysing space. Its capacity can be varied by the raising or lowering of the internal dialysing vessel (3). 8. Cathode space, capable of being scavenged with water. 9. Inlet of water for scavenging the cathode space. This is a bent glass tube with a single-bore



rubber stopper, fitted into the lower perforation of the vessel (1). The bent and tapered shape of the tube end causes the incoming water to impinge directly on the membrane, permanently scavenging the surface of the latter and immediately removing the material dialysed in the cathode space. 10. Overflow for the removal of the water scavenging the cathode space. 11. Inlet of the water for scavenging the anode space. 12. Outlet of the water for scavenging the anode space. 13. Closely fitting rubber stopper with three perforations.

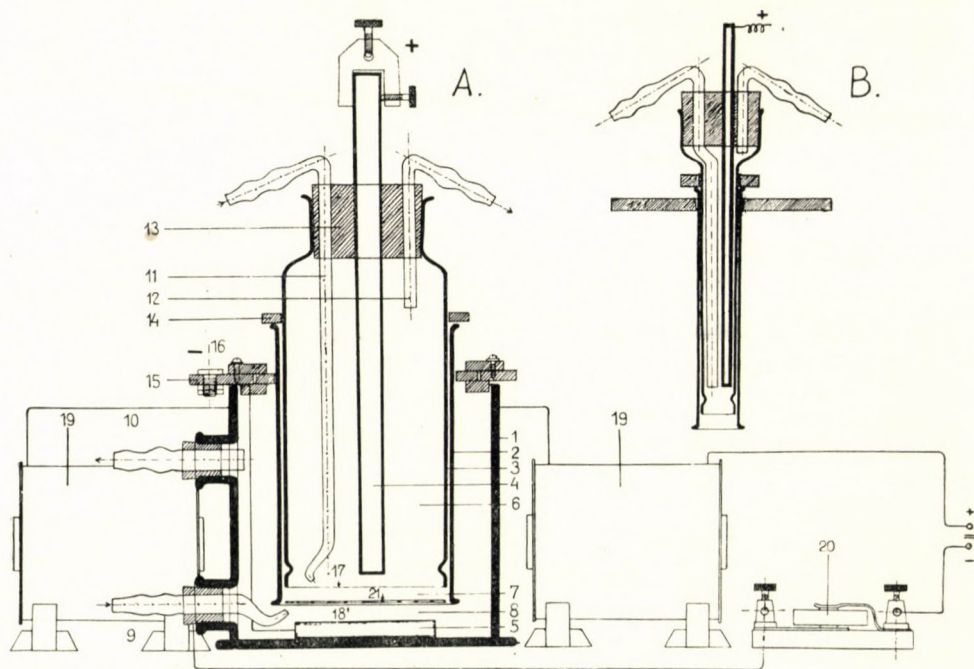


Fig. 3.

A) Rapid ED apparatus, the capacity of which is variable between 5 and 300 cm<sup>3</sup>.  
B) Special fitting for the purposes of micro-processes. Its capacity is variable between 0,5 and 10 cm<sup>3</sup>. Scale 1 : 4.

ons. 14. Slidable ring by means of which it is possible to vary the capacity of the dialysing space by raising or lowering the internal dialysing vessel (3). 15. Lid of the external footed vessel (1) which at the same time also serves for the fixing of the two dialysing vessels. 16. Plug contact for the cathode. 17. and 18. Dialysing membranes.

*Mixing apparatus:* 19. Powerful electro-magnet fitted with iron core. 20. Current interruptor. 21. Perforated softiron plate coated with paraffin.

The advantages of the apparatus and the differences it presents as compared with the Pauli and the Brintzinger and Rothaar types of apparatus, respectively, may be summed up in what follows: 1. Variable capacity.



2. Possibility of employing low temperatures. 3. Mixing method devoid of any danger. 4. Employment of inexpensive carbon-electrodes. 5. Lower current intensity. 6. The kind of material employed for the membrane and the ease with which the membrane can be fixed in position.

My data in connection with the various points are the following: 1. The radius of the dialysing space of the apparatus shown on the drawing is 3,3 cm, its ground area 34,2 cm<sup>2</sup>, its height 11 cm. Its utilisable cubic capacity is 300 cm<sup>3</sup>. The quantity of liquid to be dialysed can be varied between 5 and 300 cm<sup>3</sup>. By suitable dimensioning, the capacity of the apparatus can, of course, be increased up to 1000 cm<sup>3</sup>, whilst, on the other hand, for the purposes of micro-experiments it is possible, by making the tube dialysing vessels (2) and (3) of smaller size (see fig. 3. „B“), to reduce the minimum volume to 0,5 cm<sup>3</sup>.

2. Whilst in the case of the Pauli and of the Brintzinger and Rothaar types of apparatus it is necessary to employ a temperature of 40 C° in order to enable these devices to complete the dialysis of the Cl-ions from a 0,1 N HCl solution containing 1% gelatine within 5 hours, or 3 hours 30 minutes respectively, the apparatus described above enables the solution as above to be rendered devoid of Cl ions at a temperature of 14 C° as quickly as within 1 hour 15 minutes, whilst, if a temperature of 40 C° is employed, the dialysis will already be completed within 45 minutes. This means that, calculated for the same specific surface area, my apparatus effects dialysis at a speed 6,7 times that of the Pauli apparatus, or 4,65 times that of the Brintzinger and Rothaar apparatus. Fig. 4. indicates the speed of dialysis of the 0,1 N HCl solution containing 1% gelatine, compared with the result obtained in the Pauli and in the Brintzinger and Rothaar types of apparatus, respectively, and published by their authors. In my experiments I employed a water flow speed of 6 litres per hour; I used ordinary water from the city mains, having a temperature of 14 C°, instead of employing distilled water of 40 C° temperature. The current intensity was 0,2 amps., the voltage 110 volts. On fig. 4., which illustrates the speed of dialysis, the ordinate indicates the logarithm of the chlorine ion concentration (cm<sup>3</sup> 0,1 N Cl in 100 cm<sup>3</sup> of solution), whilst the abscissa indicates the time, expressed in hours.

In the case of liquids of high viscosity and containing a high proportion of albumen, the mixing of the liquid to be dialysed is necessary, because the ions absorbed by the albumen molecules will, during their travel, carry along the albumen molecules with them, which latter will deposit on the dialysing membrane and thereby substantially reduce the speed of dialysis; this can be prevented by mixing the liquid. As in the case of the Brintzinger and Rothaar apparatus mixing very frequently led to a disruption of the membrane and, moreover, rendered the employment of an electric motor necessary, I constructed an electromagnetic mixing apparatus, the substantial features of which are the following: into the liquid to be dialysed I placed a thin plate



made of soft iron perforated with holes of large diameter, and coated with a chemically indifferent substance (paraffin). Outside the dialysing space I arranged two powerful electromagnets which, when connected into the circuit, will raise the soft iron plate, whilst, when disconnected, the plate will owing to its weight become detached from them. By inserting a suitable

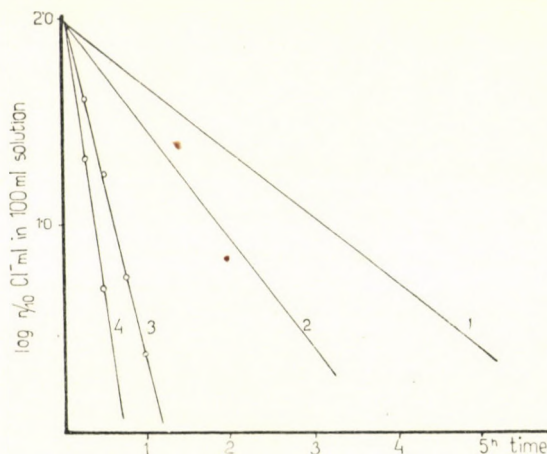


Fig. 4.

Speed of the rapid electro-dialysis of a 0,1 N HCl solution containing 1% gelatine. 1. In a Pauli type of ED apparatus. 2. In a Brintzinger and Rothaar type of rapid ED apparatus. 3. In the described rapid ED apparatus at a temperature of  $t = 14^{\circ}\text{C}$ . 4. In the described type of rapid ED apparatus at a temperature of  $t = 40^{\circ}\text{C}$ . Specific area = 1,74.

current interruptor, the frequency of connections and disconnections, and thereby the intensity of mixing, can be varied at will. The current interruptor is a simple so-called „blinker“, as used for the lighting of advertising signs.

Fig. 5. shows the electro-dialysis of a blood plasma fraction saturated, to the extent of a degree of saturation of 0,5, with ammonium sulphate, compared with a similar experiment carried out by Brintzinger. Whilst in the Brintzinger and Rothaar ED apparatus the reduction of the quantity of ammonium sulphate to zero required, at a temperature of  $40^{\circ}\text{C}$ , a time of 10 to 11 hours, the apparatus described enables this figure to be obtained, with electromagnetic mixing, at a temperature of  $14^{\circ}\text{C}$ , within 7 hours.

4. Instead of platinum electrodes I employed inexpensive carbon electrodes, which can be used during a very long time and do not exercise any harmful effect whatever on biocolloids.

5. Pauli as well as Brintzinger and Rothaar employed a current intensity of 0,5 A, and a voltage of 220 V, whilst in my own experiments I employed a current intensity of 0,2 amps. and a voltage of 110 V.



6. Whilst the dialysing membrane employed by Brintzinger and Rothaar was made of special cellophane or cuprophane or chromium gelatine, the fixing in position of which is a cumbersome operation requiring great skill,

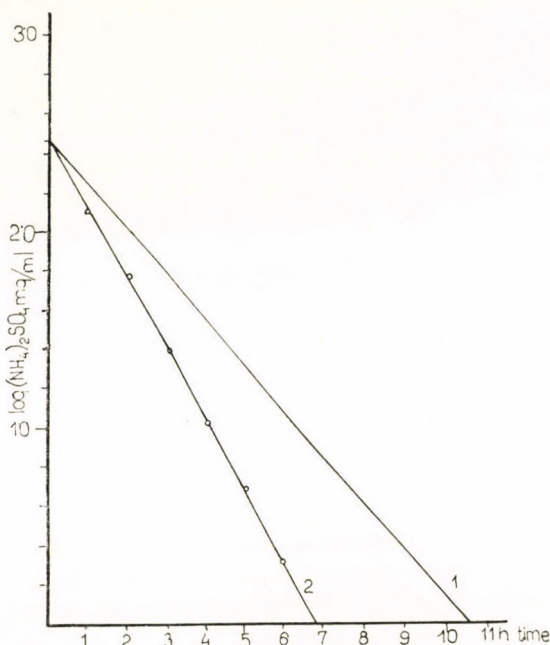


Fig. 5.

Rapid electro-dialysis of a blood plasma fraction containing ammonium sulphate of a degree of saturation of 0.5. 1. In a Brintzinger and Rothaar type of rapid ED apparatus, at  $t = 40^\circ \text{C}$ . 2. In the described type of rapid ED apparatus, at  $t = 14^\circ \text{C}$ , with electro-magnetic mixing.

I employed in my apparatus simple cellophane as used in households for fruit preserving, which can be fixed in position on the dialysing vessels with the aid of a simple rubber ring.

#### SUMMARY

1. The description of an inexpensive and simple apparatus for rapid electro-dialysis, of variable capacity and suitable for micro-processes also.
2. The comparison of the results obtained with the aid of the types of ED apparatus described in literature up to now, with the results obtained with the aid of the rapid ED apparatus described. The results show that with the aid of the apparatus described, small quantities of liquid can be dialysed at low temperatures more rapidly than with the types of apparatus known up to now.

#### LITERATURE

1. Dhéré Ch. und Gorgolewsky, M. C. R. Acad. Sci. U. R. S. S. Ser. A. 150., 943., 993. (1910.)
2. Morse H. W. und Pierce, G. W. Z. physik. Chem. 45., 589. (1903.)
3. Reiner L. Kolloid Z. 40., 123. (1926.)



4. *Baer E.* Kolloid Z. 46., 176. (1928.)
5. *Tóth A.* Biochem. Z. 189., 270. (1927.)
6. *Hisch G. E.* und *Ewig, W.* Biochem. Z. 200., 250. (1928.)
7. *Pauli,* Biochem. Z. 152., 355. (1924.)
8. *Brintzinger H. Rothaar, A. und Beier, H. G.* Kolloid Z. 66., 183. (1934.)
9. *Kratz L.* Kolloid Z. 80., 33. (1937.)

А. Новотни:

#### АППАРАТ С ПЕРЕМЕННОЙ ЕМКОСТЬЮ ДЛЯ БЫСТРОГО ЭЛЕКТРО-ДИАЛИЗА

(Институт Патологической Анатомии, Будапешт.)

##### Резюме:

1. Описание недорогого и простого аппарата для быстрого электро-дialиза, переменной емкости пригодного также для микро-процессов.

2. Сравнение результатов, получаемых с помощью аппаратов ЭД типов, описанных до настоящего времени в литературе, с результатами, полученными с помощью описанного аппарата для быстрого электро-дialиза. Эти результаты показывают, что с помощью описанного выше аппарата, незначительные количества жидкости могут быть dialизированы, при низких температурах, быстрее, чем аппаратами, типов, известных до настоящего времени.



## INWIEFERN ENTSPRICHT DER AKTOMYOSIN-FADEN ALS MUSKELMODELL?\*

Von

Mária Wollemann, György Feuer und F. Brunó Straub

(Biochemisches Institut und Medizinisch-Chemisches Institut, Univ. Budapest.)

(Eingegangen: 20. V. 1950.)

Die neueren, sich auf die Muskelkontraktion beziehenden biochemischen Untersuchungen nehmen ihren Ausgang von der Tatsache, dass das Aktomyosin-Gel auf Einwirkung von Adenosintriphosphat (ATP) überaus spezifische Kolloidveränderungen zeigt. Nach *Engelhardt* (1) ist das Ergebnis der Wechselwirkung eine Zunahme der Elastizität des Gels, nach *Szent-Györgyi* (2) schrumpfen die aus dem Aktomyosin hergestellten Fäden bei entsprechender Salzkonzentration auf Einwirkung von ATP zusammen. Das Zusammenschrumpfen des Aktomyosin-Fadens steht der Erscheinung der Kontraktion nahe und so liegt die Annahme auf der Hand, dass die am Aktomyosin-Faden beobachteten Erscheinungen das Wesen der gelegentlich der Muskelkontraktion vor sich gehenden Kolloidveränderung aufzeigen. Während die Berechtigung dieser Annahme eine immer festere Stütze findet, tauchten Zweifel darüber auf, inwiefern der Aktomyosin-Faden als Modell der Muskelfaser genügt und ob die Eigenschaften der bisher bekannten Komponenten zur Erklärung der Kontraktion genügen.

*Astbury* und seine Mitarbeiter (3) haben in einer Reihe elektronenmikroskopischer Aufnahmen die Struktur des mit ATP behandelten Aktomyosin-Fadens untersucht und sind zu der Schlussfolgerung gelangt, dass diese Erscheinung nur eine Synärese ist. Da nach dem Zeugnis der von der Muskelfaser angefertigten elektronenmikroskopischen Aufnahmen die Aktomyosin-Moleküle im Muskel unbedingt in der Richtung der Längsachse der Faser gelagert sind, könnte die Erscheinung der Synärese nicht die Erklärung für die Muskelkontraktion sein; die Synärese, die im Aktomyosin-Faden zu beobachten ist, könnte höchstens zu einer Verengung des Muskels führen, keinesfalls aber zu seiner anisodiametrischen Kontraktion.

\* Diese Arbeit wurde durch die Ungarische Akademie der Wissenschaften unterstützt.



*Szent-Györgyi* gibt die Berechtigung dieses Einwandes nicht zu und verweist wiederholt auf frühere Versuche von *Gerendás* (4), die auf die Möglichkeit einer anisodiametrischen Kontraktion hinweisen. *Gerendás* hat gezeigt, dass, wenn es gelingt, den Aktomyosin-Faden in einem solchen Masse zu orientieren, dass die Anordnung der Aktomyosin-Moleküle sich der in der Muskelfaser wahrzunehmenden Orientation nähert, der so behandelte Aktomyosin-Faden nach Hinzufügen von ATP anisodiametrisch kontrahiert, sich verkürzt und verdickt. Mit einem solchen, nach *Gerendás* orientierten Aktomyosin-Faden haben *Astbury* und seine Mitarbeiter keine Versuche gemacht. *Szent-Györgyi* betont abermals, dass der Aktomyosin-Faden nur deswegen eine Synärese zeige, weil er nicht entsprechend orientiert sei; könnten wir ihn orientieren, dann würde er eine anisodiametrische Kontraktion zeigen.

Die Orientation der allgemein in Verwendung stehenden Aktomyosin-Fäden ist ziemlich niedrig. *Gerendás* behandelte die Aktomyosin-Fäden mit einer sehr verdünnten  $\text{ZnSO}_4$ -oder einer 25%-igen Glyzerin-Lösung und sie wurden nach dieser Behandlung dehnbar. Infolge der Dehnung steigerte sich die Aktomyosin-Orientation, was in einer ansehnlichen Erhöhung der Doppelbrechung zum Ausdruck kam. Diese so behandelten und gedehnten Fäden zeigten nach der Hinzugabe von ATP eine anisodiametrische Kontraktion.

Es ist in uns der Gedanke aufgetaucht, dass auf Einwirkung des Zn und des Glyzerins am Aktomyosin auch sonst eine Veränderung eingetreten und nicht die Zunahme der Orientation die Ursache für das veränderte Verhalten des Aktomyosins wäre. Wir versuchten daher, wie man ohne Hinzugabe fremder Stoffe orientierte Aktomyosin-Fäden herstellen könnte. Und es gelang auch. Wie aus unseren unten angeführten Versuchen hervorgeht, zeigt der Aktomyosin-Faden in jedem Falle nur eine Synärese, wie gross auch der Grad der Orientation sein möge. Demgegenüber kontrahieren die mit Zn behandelten Fäden tatsächlich anisodiametrisch, wenn ihre Orientation einen gewissen Grad erreicht. Die anisodiametrische Kontraktion hängt also ausser der Orientation der Aktomyosin-Teilchen noch vom Auftreten bestimmter struktureller Veränderungen ab.

### *Methoden*

In einer 0,5 M KCl-Lösung des Aktomyosins orientieren sich die Eiweiss-Moleküle unter Strömung. Je grösser die Geschwindigkeit der Strömung (die zum Druck in direkter, zum Durchmesser der Kapillare in indirekter Proportion steht) und je grösser die Konzentration des Aktomyosins, um so grösser ist die Orientation. Zur Herstellung von Aktomyosin-Fäden pflegt man im allgemeinen eine Kapillare mit einem Durchmesser von einigen zehntel Millimeter zu verwenden. Wir fanden, dass sich aus einer 1,5%-igen Aktomyosin-Lösung bei entsprechender Steigerung des Druckes, durch eine Kapillare von wesentlich kleinerem Durchmesser geblasen, ein gut orientierter



Aktomyosin-Faden herstellen lässt. Durch Veränderung des Durchmessers der Kapillare können beliebig orientierte Fäden hergestellt werden. In Anbetracht des kleinen Querschnittes der Kapillare schien es geeigneter, statt des üblichen B-Myosins aus reinem Myosin und Aktin angefertigtes Aktomyosin zu verwenden. Im B-Myosin gibt es immer suspendierte Teilchen, die die dünne Kapillare rasch verstopfen.

Das Aktomyosin mischten wir aus kristallinischem Myosin und dem auf die übliche Weise hergestellten polymerisierten Aktin zusammen, so dass das Gewichtsverhältnis der beiden Eiweisstoffe 5 : 2 war. Vor dem Mischen gaben wir in das polymerisierte Aktin soviel festes KCl, dass die Endkonzentration des KCl 0,5 *M* wurde. Die verwendete Myosin-Lösung enthielt 40 mg/cc, die polymerisierte Aktin-Lösung 8 mg/ccm Eiweiss.

Die Aktomyosin-Lösung bliesen wir durch Kapillaren verschiedenen Durchmesser (siehe oben) in eine Lösung, in der sich 0,05 *M* KCl und 0,005 *M* MgSO<sub>4</sub> befanden. In dieser Lösung können die Fäden ungefähr einen Tag gehalten werden. Die Untersuchung der Fäden erfolgte in der Weise, dass wir den Faden auf einer ausgehöhlten Objektivplatte unter dem Mikroskop in 0,35 ccm Lösung (0,05 *M* KCl und 0,005 *M* MgSO<sub>4</sub>) mit der Pipette hoben oder hinüberschafften. Mit dem Okularmikrometer stellten wir seine Masse fest und massen dann mit dem Babinet-Kompensator seine Doppelbrechung. Dann beobachteten wir nach Beimengung einer 0,05 ccm 1%-igen ATP-Lösung die Veränderungen an den Massen des Fadens. Dann massen wir die Doppelbrechung des Fadens abermals mit dem Babinet-Kompensator.

Die Wirkung der Zn-Ionen untersuchten wir in der Weise, dass wir die Fäden unter Verwendung der soeben beschriebenen Methode in eine Lösung bliesen, in der sich neben 0,05 *M* KCl 0,005 *M* ZnSO<sub>4</sub> befanden. Nachdem zehn Minuten oder noch mehr verstrichen waren, nahmen wir die Fäden aus der Lösung heraus und beobachteten die Wirkung des ATP in der Weise, dass wir den Fäden in die übliche 0,05 *M* KCl + 0,005 *M* MgSO<sub>4</sub>-Lösung unter das Mikroskop führten. Eine eventuelle Dehnung der Fäden erfolgte in der Weise, dass wir in der wässrigen Lösung die beiden Enden des Fadens an Glasstäbe klebten und, indem wir diese voneinander entfernten, einige Minuten in gedehntem Zustande hielten.

Bei der Herstellung von „Glycerinfäden“ bliesen wir die Fäden in 25% Glycerin enthaltendes Wasser; die mikroskopische Untersuchung der Fäden erfolgte auch hier nach einer Überführung in eine KCl + MgSO<sub>4</sub>-Lösung.

Zur Anfertigung jeder Lösung verwendeten wir doppelt destilliertes Wasser. Bezüglich der Herstellung von Myosin und Aktin aus Kaninchenmuskeln s. (2) bzw. (5). Zur Vermeidung von Schwermetallsalzverunreinigungen befanden sich in jeder unserer Lösungen 0,02 *M* Glykokoll.



## VERSUCHSERGEBNISSE

I. Die Daten von Tabelle 1 zeigen die Versuche, die wir an aus verschiedenen Aktomyosin-Präparaten hergestellten, verschieden orientierten Fäden vorgenommen haben, als wir die Fäden in eine  $\text{KCl-MgSO}_4$ -Mischung bliesen.

TABELLE 1.

Durchmesser mm	Doppelbrechung des Fadens × 10 <sup>4</sup>	Längen-	Durchmesser-	Doppel- brechung × 10 <sup>4</sup>
		Änderung in %		
vor der Hinzugabe von ATP		nach der Hinzugabe von ATP		
0,03	5,7	—47	—41	17
0,03	9,6	—50	—50	32
0,05	3,7	—53	—66	16
0,08	1,8	—60	—50	5
0,08	1,9	—67	—50	6
0,08	1,2	—50	—60	3
0,08	6,4	—60	—60	20
0,19	0,34	—63	—50	1,4
0,20	0,4	—56	—50	2
0,25	0,13	—64	—50	1
0,33	0,06	—58	—50	0,7

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die dem Aktomyosin-Faden auf Grund der Doppelbrechung zuerkennbare Orientation sich in weiten Grenzen ändert, dass aber unabhängig von deren Wert immer nur eine Synärese wahrzunehmen ist. Wenn wir die Änderung der Doppelbrechung betrachten, so sehen wir, dass sie nach der Hinzugabe von ATP auf das Drei- bis Zehnfache anwächst und dass das Anwachsen innerhalb der untersuchten Grenzen davon unabhängig ist, wie gross die Ausgangsdoppelbrechung war. Die Abnahme des Gelvolumens und die Zunahme der Doppelbrechung weisen eindeutig darauf hin, dass unabhängig von der Orientation diese Fäden bloss die Erscheinung einer einfachen Synärese zeigen.

II. Nach *Gerendás* sind die in 25%-iges Glyzerin gezogenen Fäden dehnbar und wenn wir so durch Dehnung die Orientation steigern, ist eine anisodiametrische Kontraktion wahrzunehmen: der Faden wird nach der Hinzugabe von ATP kurz und dick. Unsere Versuche bestätigen diese Beobachtungen in vollem Masse. Die Glyzerinfäden orientierten wir zum Teil mittels Durchblasens in dünnere Kapillare, zum Teil zogen wir die üblichen dicken Fäden und orientierten sie nachträglich durch Dehnen. Tabelle 2 zeigt die Ergebnisse, wo wir in den mit einem Sternchen bezeichneten Versuchen die Fäden mittels nachträglicher Dehnung herstellten.



TABELLE 2.

Durchmesser mm	Doppelbrechung des Fadens × 10 <sup>4</sup>	Längen-	Durchmesser	Doppel- brechung × 10 <sup>4</sup>
		Änderung in %		
vor der Hinzugabe von ATP		nach der Hinzugabe von ATP		
0,02	19	—25	+200	5,3
0,07	12	—33	+150	4,3
0,08	6,6	—20	+140	1,9
0,08	4,5	—20	+ 50	1,9
0,26	1	—37	— 25	2,3
0,33	0,1	—20	— 25	0,7

Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, dass unter den mit Glyzerin behandelten Fäden diejenigen, deren Orientation grösser ist (Doppelbrechung über  $10^{-4}$ ), auf die Hinzugabe von ATP anisodiametrisch kontrahieren, während diejenigen, deren Orientation kleiner ist, eine Synärese zeigen.

Die Deutung der Wirkung des Glyzerins ist jedoch zweifelhaft. Wenn wir die Versuche mit pro analysi Glyzerin ausführten, dann gelang es nur bei einer wesentlich grösseren Orientation, in vereinzelten Fällen eine anisodiametrische Kontraktion zu erreichen. Ebendeswegen glauben wir, dass die Wirkung des Glyzerins den darin enthaltenen Verunreinigungen zugeschrieben werden muss. Darauf deutet auch der Umstand, dass, wenn wir die mit Glyzerin behandelten Fäden in 1 *M* Glykokoll stehen lassen, sie ihre Fähigkeit verlieren, eine anisodiametrische Kontraktion zu zeigen und ebenso bloss eine Synärese zeigen wie die in reinem KCl gezogenen Fäden.

Das Glyzerin hat aber tatsächlich die Eigenschaft, dass auf seine Einwirkung die Fäden dehnbar werden. Davon ausgehend, untersuchten wir auch einige andere polare Eigenschaften aufweisende indifferente Stoffe. Wenn wir in einer 25%-igen Glykol-, Erythrit- oder Glukoselösung Fäden zogen, waren die so erhaltenen Fäden dehnbar. Am besten konnten die in Glukose gezogenen Fäden gedehnt werden. Auf diese Weise stellten wir gut orientierte Fäden her, doch nahmen wir in keinem Falle eine anisodiametrische Kontraktion wahr, sondern bloss eine Synärese.

III. Ein ganz anderes Verhalten zeigten die mit Zn behandelten Fäden. Wie aus den in Tabelle 3 mitgeteilten Daten hervorgeht, zeigen in Gegenwart von 0,005 *M*  $\text{ZnSO}_4$  diejenigen Fäden, die bereits ursprünglich gut orientiert waren, ebenso wie diejenigen, die wir ursprünglich in kleiner Orientation herstellten und dann durch Dehnung orientierten, gleicherweise eine anisodiametrische Kontraktion und werden nach Hinzugabe von ATP kurz und dick.

Es kann ferner ersehen werden, dass diejenigen mit Zn behandelten Fäden, deren Orientation kleiner (die Doppelbrechung kleiner als  $10^{-4}$ ) ist, nach Hinzugabe von ATP nur eine Synärese zeigen. Im Falle der mit Zn behandelten Fäden verhält es sich also tatsächlich so, dass die anisodiamet-



rische Kontraktion eine Funktion der Orientation und nur bei grösserer Ordnung wahrnehmbar ist. Aus dem Vergleich mit „gewöhnlichen“ Aktomyosin-Fäden geht jedoch klar hervor, dass die Orientation allein nicht genügt. Noch besser beweisen dies die folgenden Versuche: Die mit Zn behandelten und orientierten Fäden mit grosser Doppelbrechung, die zu einer anisodiametrischen Kontraktion fähig sind, liessen wir 3 bis 12 Stunden lang in einer 1 M Glykokoll-Lösung stehen. (Tabelle 4.)

TABELLE 3.

Durchmesser mm	Doppelbrechung x 10 <sup>4</sup>	Längen-	Durchmesser-	Doppel- brechung x 10 <sup>4</sup>
		Änderung in %		
vor der Hinzugabe von ATP		nach der Hinzugabe von ATP		
0,016	16	— 20	+ 100	6,4
*0,025	20	— 25	+ 100	7,5
0,05	12	— 29	+ 170	1
*0,06	11	— 40	+ 200	2,1
0,06	11	— 27	+ 160	1,8
*0,08	6	— 22	+ 80	0,7
*0,08	6	— 33	+ 40	3,2
*0,13	2	— 25	+ 25	1
0,13	1	— 22	+ 43	0,3
*0,16	2,5	— 20	+ 30	1
0,17	3,4	— 25	+ 51	0,8
0,25	2,1	— 17	+ 17	1
0,31	0,9	— 17	— 20	1,7
0,33	0,04	— 45	— 50	0,4
0,33	0,1	— 20	— 20	0,5
0,38	0,8	— 34	— 20	1,7
0,40	0,6	— 13	— 17	1,4
0,5	0,3	— 20	— 23	0,8
0,6	0,4	— 20	— 26	0,6

\* Diese Fäden haben wir mittels nachträglicher Dehnung dargestellt.

Das Verhalten der gewöhnlichen Aktomyosin-Fäden wird durch eine Waschung mit einer 1 M Glykokoll-Lösung nicht geändert. Demgegenüber verloren die mit Zn behandelten und dann mit Glykokoll ausgewaschenen Fäden, obwohl ihre Orientation sich nicht geändert hatte, ihre Fähigkeit, anisodiametrisch zu kontrahieren, diese Fäden zeigen nur mehr eine Synärese. Das gleiche Ergebnis lässt sich auch mit einer 0,005 M KCN-Lösung erreichen.

TABELLE 4.

Durch- messer	Doppel- brechung	Längen-	Durch- messer	Doppel- brechung	Zur Entfernung des Zn verwendete Lösung
des Fadens				x 10 <sup>4</sup>	
mm	x 10 <sup>4</sup>	Änderung in %		x 10 <sup>4</sup>	
vor der Hinzugabe von ATP		nach der Hinzugabe von ATP			
0,05	12	—28	—50	21	Glykokoll
0,12	3	—33	—43	7	„
0,22	1,5	—25	—30	3	„
0,12	3,5	—47	—43	7	0,005 M KCN
0,17	2,9	—51	—20	3,4	„



Die obigen Ergebnisse zeigen, dass in Gegenwart von Zn-Ionen der Aktomyosin-Fäden sich in einem solchen Masse verändert, dass er im Falle einer entsprechenden Orientation einer anisodiametrischen Kontraktion fähig wird. Der reine Aktomyosin-Faden selbst ist hierzu bei keinerlei Orientation fähig.

Aus den Daten von Tabelle 3 ist ersichtlich, dass in den Fällen, da im Faden die Anfangsorientation kleiner ist, nach Hinzugabe von ATP die Doppelbrechung zunimmt, ebenso wie bei den „gewöhnlichen“ Aktomyosin-Fäden. War aber der Wert der Doppelbrechung schon im Anfang gross, dann nimmt die Doppelbrechung nach der Hinzugabe von ATP ab. In diesen Fällen wird also das Ergebnis das Gegenteil der Synärese sein: die Aktomyosin-Moleküle nähern sich einander nicht, sondern ihre Ordnung wird geringer.

In den Fällen, da die Anfangsdoppelbrechung der mit Zn behandelten Fäden gross ist, kann nach der Hinzugabe von ATP eine grosse Zunahme des Volumens wahrgenommen werden. Während das Volumen der mit Zn nicht behandelten orientierten Fäden auf ungefähr  $1/4$  bis  $1/10$  abnimmt, nimmt das Volumen der mit Zn behandelten, orientierten Fäden zu und erreicht in manchen Fällen das Vierfache seiner ursprünglichen Grösse. Gegenüber der Synärese tritt also in diesem Falle eine Wasseraufnahme, eine Quellung ein. Diese Quellung steht natürlich in engem Zusammenhang mit der vorhin erwähnten Abnahme der Doppelbrechung. Bei einem gewissen Grad der Orientation ist eine Aenderung des Volumens nicht wahrzunehmen, da gleichen Verkürzung und Verdickung des Fadens einander gerade aus.

Besonders interessant ist es, bei einem Vergleich der Anfangsdoppelbrechung der verschiedenen orientierten Fäden mit der Doppelbrechung, die wir nach Hinzugabe von ATP wahrnehmen, zu beobachten, dass die Ausgangswerte auf Tabelle 3 zwischen  $0,04$  und  $20 \times 10^{-4}$  variieren, während die nach der ATP-Behandlung gemessenen Werte zwischen  $0,6$  und  $7 \times 10^{-4}$  variieren. Diese Ausgleiche der Doppelbrechung tritt in der Weise ein, dass die Doppelbrechung der geordneteren Fäden abnimmt, während die der weniger geordneten zunimmt. Es scheint, dass die Doppelbrechung der Fäden nach der Hinzugabe von ATP einer Gleichgewichtslage zusteuert. Das steht im Gegensatz zum Verhalten der „gewöhnlichen“ Aktomyosin-Fäden. Eine ebensolche Regelmässigkeit ist auch bezüglich des Durchmessers (im wesentlichen des Volumens) des Fadens zu beobachten. Besonders sinnfällig geht dies aus den Angaben der folgenden Tabelle hervor. Die Daten von Tabelle 5 gewannen wir auf die Weise, dass wir dickere, also wenig orientierte Zn behandelte Fäden anfertigten, sie zerstückelten und einen Teil des Fadens dehnten. Infolge der Dehnung nahmen der Querschnitt des Fadens ab, seine Doppelbrechung zu. Bei Beobachtung des Verhaltens des gedehnten und des ungedehnten Fadens erhielten wir nach Hinzugabe des ATP die folgenden Resultate (s. Tab. 5.).



TABELLE 5.

Faden	Durchmesser mm	Doppelbrechung $\times 10^4$	Durchmesser mm	Doppelbrechung $\times 10^4$	Längen- änderung %
	vor der Hinzugabe von ATP		nach der Hinzugabe von ATP		
1. Vor der Dehnung .....	0,33	0,04	0,17	0,4	-45
Nach der Dehnung .....	0,08	3,2	0,17	0,4	-17
2. Vor der Dehnung .....	0,41	0,25	0,3	1	-20
Nach der Dehnung .....	0,17	2,6	0,22	1	-20
3. Vor der Dehnung .....	0,50	0,3	0,38	0,8	-20
Nach der Dehnung .....	0,17	3,4	0,25	0,9	-25
4. Vor der Dehnung .....	0,58	0,4	0,4	0,6	-20
Nach der Dehnung .....	0,30	1	0,4	0,7	-33
5. Vor der Dehnung .....	0,40	0,6	0,3	1,4	-13
Nach der Dehnung .....	0,18	4	0,25	2	-22
6. Vor der Dehnung .....	0,31	0,9	0,27	1,8	-17
Nach der Dehnung .....	0,22	2	0,27	1,8	-17
7. Vor der Dehnung .....	0,38	0,8	0,30	1,7	-34
Nach der Dehnung .....	0,20	2,2	0,25	1,7	-17

Diese Angaben weisen darauf hin, dass der mit Zn behandelte Aktomyosin-Faden ein metastabiles System ist, das auf Hinzugabe von ATP in einen bestimmten Gleichgewichts-Quellungszustand gerät. Dieser Gleichgewichtszustand lässt sich von zwei Richtungen aus erreichen: Ist der Faden ungeordnet, durch eine Steigerung der Ordnung und durch Verdrängung des Wassers (Synärese); sind aber auf irgendeine Weise die Moleküle bereits geordnet, dann gelangt das Gel mit der Abnahme der Ordnung und mit der Wasseraufnahme in den Gleichgewichtszustand, eine Quellung tritt ein. In beiden Fällen aber ist eine Verkürzung wahrzunehmen.

Figur 1 zeigt, wie sich der Durchmesser des gewöhnlichen Aktomyosin-Fadens und des mit Zn behandelten Aktomyosin-Fadens nach der Hinzugabe von ATP verändert. Es ist zu sehen, wie diese Veränderung mit der Ordnung der Aktomyosin-Moleküle zusammenhängt.

### Folgerungen

Die Zn-Ionen geben bekannterweise mit Aminosäuren (6) und Peptidbindungen (z. B. im Insulin) gute Komplexe. Dass nach der Entfernung des Zn das Verhalten des Gels sich von Grund aus ändert, deutet darauf hin, dass das Zn sich in die Struktur des Gels einbaut. Die Wahrscheinlichkeit besteht, dass das Zn sich in der Weise in das Aktomyosin einbaut, dass es seine Struktur in eine dreidimensionale, in ein Raumnetz verändert. *Katchalsky* (7) verwies darauf, dass mit einer geringen Menge von Verbindungsstoff dreidimensional



gestaltete Metakrylsäurepolymer reversibel schwillt und schrumpft, wenn das Molekül eine Ladungsänderung erleidet. Nach *W. Kuhn* (8) wird, wenn wir ein Akrylsäurepolymerisat orientieren und hierauf mit ein wenig Glyzerin ein dreidimensionales Raumnetz herausbilden, das so erhaltene Gel beim Schwellen in der Richtung der Orientation kürzer. Es ist anzunehmen, dass im Aktomyosin-Faden bei einer Zn-Behandlung ähnliche Veränderungen zustande kommen.

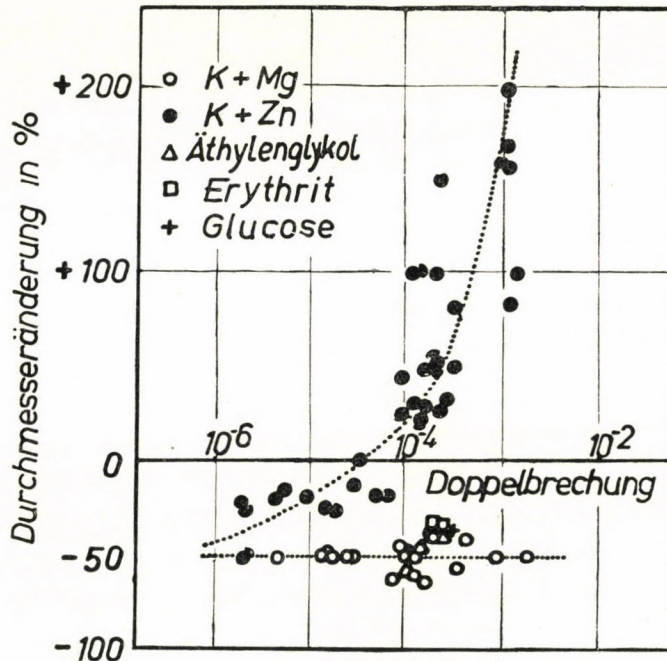


Abb. 1.

Vergleich von gewöhnlichen und Zn-behandelten Faden. Abszisse: Doppelbrechung des Fadens vor dem Experiment. Ordinate: Durchmesser Änderung nach Zugabe von ATP.

Der Aktomyosin-Faden kann daher nur in dem Falle als Muskelmodell angesehen werden, wenn in dem Muskel ein Stoff vorhanden wäre, der die Rolle des Zn ausfüllt: der aus den Aktomyosinmyzellen ein Raumnetz herausbildet. In dem mit einer Weber-Lösung angefertigten Extrakt des quergestreiften Muskels ist ein solcher Stoff nicht vorzufinden. Auf Grund der von den Muskelfibrillen gemachten elektronenmikroskopischen Aufnahmen (9, 10) ist es vorstellbar, dass die in den A-Segmenten zu sehende Materialanhäufung, wo auch die Einfadelerung der Fasern wahrzunehmen ist, diese Rolle ausfüllt. Wenngleich diese Möglichkeit einer Prüfung bedarf, hat es eine grössere Wahrscheinlichkeit für sich, dass die Raumnetzverbindung in einer niedrigeren Dimension gesucht werden muss.



## ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Aktomyosin-Fäden zeigen nach der Hinzugabe von ATP bloss die Erscheinungen einer Synärese, unabhängig davon, in welchem Masse sie orientiert sind.
2. Mit Zn-Ionen behandelte Aktomyosin-Fäden zeigen im Falle einer kleineren Orientation eine Synärese, im Falle einer grösseren Orientation eine anisodiametrische Kontraktion.
3. Eine ähnliche Wirkung des Glyzerins ist metallionischen Verunreinigungen zuzuschreiben.
4. Zur Erklärung der Erscheinungen nehmen wir an, dass mit dem Einbau von Zn-Ionen im Aktomyosin-Gel sich ein Raumnetz herausentwickelt, das einen bestimmten Quellungs-gleichgewichtszustand hat. Auf Einwirkung von ATP gelangt das Gel aus dem von seiner Vorbehandlung abhängigen Zustand in diesen Gleichgewichtszustand, entweder durch Synärese oder durch Quellung.

## LITERATUR

1. Engelhardt V. A., Ljubimowa M. N., Meitina R. A., Doklady A. N. 30., 644. 1941.
2. Szent-Györgyi A., Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged, 1., 17., 1942.
3. Perry S. V., Reed R., Astbury W. T. und Spark L. C., Biochim. Biophys. Acta 2., 674. 1948.
4. Gerendás M., Stud. Inst. Med. Chem. Univ. Szeged, 1., 47. 1942.
5. Feuer G., Molnár F., Pettkó E. und Straub F. B., Hungarica Acta Physiol. 1., 150. 1948.
6. Eissenbrand I. und Wegel F., Z. physiol. Chem., 268., 26. 1941.
7. Katchalsky A., Experientia, 5., 318. 1949.
8. Kuhn W., Experientia, 5., 318. 1949.
9. Hall C. E., Jakus M. A. und Schmidt F. O., Biol. Bull., 90., 32. 1946.
10. Rózsa G., Szent-Györgyi A., Wyckoff, R. W. G. Biochim. Biophys. Acta, 3., 561. 1949.

Мария Воллеманн, Дёрдь Фейер, Ф. Бруно Штрауб:

„СТЕПЕНЬ ПРИГОДНОСТИ АКТО-МИОЗИННОЙ НИТИ, В КАЧЕСТВЕ МОДЕЛИ МЫШЕЦ“.

(Институт Медицинской Химии, Будапешт.)

## Резюме:

1. Акто-миозинные нити выказывают после прибавления А. Т. Ф. лишь синерезис, независимо от того в какой степени они ориентированы.
2. Акто-миозинные нити, подверженные действию Zn ионов, показывают, в случае меньшей ориентации, синерезис, в случае большей ориентации онизо-диаметральное сокращение.
3. Подобное действие глицерина следует объяснять загрязнением ионами металлов.
4. Для объяснения этих явлений, мы предполагаем, что с введением Zn ионов, образуется в акто-миозинном желе сеткообразное пространство, находящееся в состоянии ограниченного расширительного равновесия. Под влиянием А. Т. Ф. переходит это желе, из состояния, обусловленного прежними воздействиями на него, в состояние этого равновесия, либо через синерезис, либо через расширение.



## THE ADRENALIN REVERSAL REACTION OF THE UTERUS MUSCLE

By:

*Dezső Nagy and Kálmán Lissák*

(Publication of the Physiological Institute, University Pécs.)

(Received: 13. VI. 1950.)

In the great problem of nervous inhibitions the peculiar adrenalin reversal reaction of the uterus muscle constitutes an outstandingly interesting phenomenon. It is a well-known fact that in a non-pregnant condition the uterus muscle of dogs or cats will, upon the excitation of the nervus hypogastricus, or under the action of adrenalin, relax whilst in its pregnant condition it will react with contractions (*Kurdinowsky*, 1, *Cushny*, 2). *Van Dyke* and *Gustavson* (3, 4) and subsequently *Kennard* (5) expressed the view that it is the progesterone increasing in quantity during pregnancy that can be held responsible for this reversional reaction.

The excitatory and the inhibitory innervation were interpreted by *Langley* (6) in such a manner that various receptive substances may possibly exist in the effector cells being combined with which substances adrenalin will display an excitatory or an inhibitory action. *Cannon* and *Rosenblueth* (7), on the other hand, suppose that the mediator released at the endings of the nervus sympathicus is probably adrenalin (A), or some substance very similar to adrenalin (M), which becoming combined with some hypothetical substance (H) in the activated cells, produces an MH or AH combination. Now this supposed substance may either have an excitatory (E) or an inhibitory (I) effect. It is then sympathin E (excitatory) or I (inhibitory) which would be released from the stimulated effector according to whether the stimulus produces contraction or relaxation. *Bacq* (8) believed to have found such a transforming substance in catecholoxydase, which would decompose adrenalin into adrenoxin, which latter has an inhibitory effect, and it is this that would explain the seemingly mysterious inhibitory relaxing effect of adrenalin on the muscle system of the nonpregnant uterus or bowels, etc. By our own experiments (*Lissák*, 9) we were, however, unable to confirm the results of *Bacq*, and thus it continued to remain hidden from us, in what manner and why the reaction of adrenalin and of hypogastric excitation become reversed



at the beginning of pregnancy and also under the effects of a treatment with corpus luteum. *Bacq* (10), and more recently *Euler* (11) and others, believe that the sympathin exercising an inhibitory effect is non-methylated adrenalin, i. e. noradrenalin, which would be a very simple interpretation of the two kinds of sympathin effects but still leaves the mechanism of the adrenalin reversal in the dark.

In view of solving the problem, we had to decide, first of all, whether it is at all in connection with the nerve excitation (*nervus hypogastricus*) that the release of some substance resembling adrenalin is noticeable in the uterus, and if so, what kind of biological activity this substance exercises in the non-pregnant and in the pregnant uteri, respectively.

*Experimental methods.* For our tests we employed non-pregnant and pregnant cats and dogs; it was chiefly cats, however, that were treated in view of the greater uniformity of the material available. In order to create as clear experimental conditions as possible, we have previously extirpated the *nervi pelvici* in an ether narcosis under sterile conditions, following which we have, a fortnight after the operation, investigated in acute experiments the biological activity of the substance released from the uteri upon the stimulation of the *nervus hypogastricus*.

The tests were carried out under „in situ“ as well as under „in vitro“ conditions. The uterus of the animal with extirpated *nervus pelvici* was laid open in an ether narcosis, on one side together with the *nervus hypogastricus*, and the uterus was divided into two parts in such a manner that to the side dressed together with its nerve, we also added the trunk, whilst on the other side the horn above the bifurcation was removed from it. Both uterus horns were, in accordance with the technique of isolated, non-striated muscle organs, suspended into Magnus vessels or Sartorius vessels of small volume, and the movements were registered with 10-fold magnification. The two vessels were connected by means of rubber tubes and a syringe, which likewise were immersed into a water-bath of 38 C°. temperature in such a manner as to enable the liquid to be transferred from one vessel into the other practically without any loss of temperature. The exchange of liquids required only a few seconds. The *nervus hypogastricus* of the uterus portion dressed together with its nerve was stimulated by means of induced current or by means of condensator discharges 40 to 50 times per second as a supermaximum. After stimulation continued during 0,5 to 2 minutes, the suspension liquid of the excited horn was transferred to the other horn, and the reaction of the latter was also registered. By means of control tests we established the fact, that the exchange of the liquids, if carried out with a proper technique, does not mean any particular stimulus for the uterus, and does not influence the adrenalin reaction. In general, the load of the writing lever was, in our „in vitro“ as well as in our „in situ“ test, always adjusted in such a manner as to



ensure that the spontaneous contractions of the uterus muscle should exercise a small effect only, which intervention did not influence the adrenalin reaction in any substantial degree.

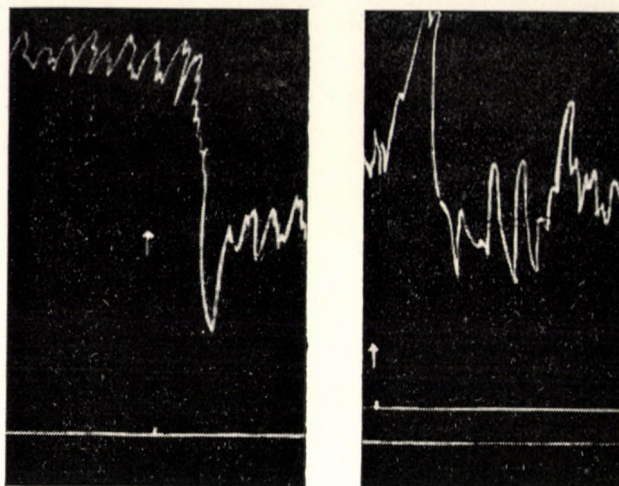
The „in situ“ registration was effected according to the method of Cannon and Rosenblueth (12). The animal, the nervus pelvicius of which had been extirpated, was narcotised with dial of 0,08 g/kg i. p. or with chloralose of 0,10 g/kg i. v., following which, in order to avoid asphyxia, we inserted a canule into the trachea and applied artificial respiration. The administration of the substances was effected through a canule connected into the vena femoralis. Both suprarenal glands were ligated. One of the horns of the uterus was, after effecting the necessary ligations, released at the tuba, following which extending down to the bifurcation an incision was made into the ligamentum latum immediately beside the uterus horn. Below the bifurcation a rigid needle was stuck into the uterus trunk, the needle being held in a frame and fixed in such a manner that the uterus trunk raised by it should still come to be situated below the level of the abdominal wall. On the tubal end of the released uterus horn we tied a thread and connected the latter with a writing lever. Around the uterus horn we placed a glass cylinder, the lower end of which reached down into the abdominal cavity, whilst its upper end was covered with Ringer-ed cotton-wool. Clamping the abdominal wall together with blood-vessel clips around the cylinder, we closed the abdominal cavity, whilst the cylinder containing the uterus horn was heated by means of an electric bulb. By this procedure we were successful in protecting the uterus against exsiccation and against cooling down in such an extent that its circulation and function remained unimpaired even during the 5th and 6th hour of the experiment. The corresponding nervus hypogastricus was cut below the ganglion hypogastricum and was stimulated through shielded silver wire electrodes placed a few millimeters below the cut. The effect of the substance released from the uterus was registered by means of the blood-pressure measured through a canule connected into the arteria carotis.

*Experimental results.* When the nervus hypogastricus of a non-pregnant uterus was excited „in vitro“, it relaxed, and if its perfusion liquid was, after excitation, transferred to another similarly non-pregnant uterus, the latter also relaxed. If, on the other hand, the perfusate of the non-pregnant uterus was transferred to a pregnant uterus, this latter always reacted with contractions. When perfusate obtained upon the „in vitro“ stimulation of a pregnant uterus was transferred to another pregnant uterus, we observed contraction, whilst, if it was transferred to a non-pregnant uterus, we observed relaxation. Administered to a whole animal, the perfusate increased the frequency of cardiac action, and increased the blood pressure. If the nervus hypogastricus was stimulated under „in situ“ conditions, the uterus reacted by relaxation or by contraction according to whether the animal was pregnant or not. Irrespectively,



Fig. 1.

Isolated uterus horns of a parasympathectomized non-pregnant cat; (a) the effect of excitation, (b) the effect of the substance released upon excitation.



however, of whether the uterus contracted or relaxed upon the excitation of the nervus hypogastricus, the blood pressure and the frequency of cardiac action became increased in all cases. In all, 30 cats and dogs were treated in this section of our experiments in various conditions. See figures 1 and 2.

On the basis of the results of the experiments carried out by us up to now, it was established beyond doubt that, upon the excitation of the nervus hypogastricus, regardless of the conditions of the uterus muscle, a substance possessing effects resembling those of adrenalin will always be released from the adrenergic post-ganglionic hypogastricus fibres. In connection herewith reference may be made from the literature, to the investigations of *Cannon* and *Bacq* (13), who observed on cats, upon the excitation of the hypogastricus, an increase of the frequency of cardiac action and a rise of the blood pressure. As against this, *Sherif* (14) found in dogs the blood discharged in the vena uterina after excitation of the hypogastricus to contain acetylcholin. We explain these results by supposing that, on the one hand, he has failed to extirpate the nervi pelvici



Fig. 2.

Pregnant uterus of a parasympathectomized cat in situ. The upper curve indicates blood pressure, the lower the uterus. At the points marked, the nervus hypogastricus was excited.



previously, and, on the other hand, by supposing that the acetylcholin demonstrated by him probably derived from the ganglia. We also found that in „in vitro“ tests, upon the excitation of the hypogastricus, we have, after the lapse of a certain time (10–50 minutes) either not obtained any reaction, or a slow rise of tonus of the uterus presented itself. According to our opinion, in these cases the ganglionic synapsis has already become destroyed and upon the excitation of the hypogastricus, acetylcholin became released from the ganglia and diffused into the perfusion liquid. Such irregularities were not noticed by us in the „in situ“ tests, because here we did not interfere with the circulation of the ganglionic system. And if any acetylcholin possibly released from the ganglia should, after all, have got into the circulation, it was not possible for its effect to become exercised against that of adrenalin, on the one hand, owing to its smaller quantity, and, on the other hand, owing to its more rapid destruction. In connection herewith a decisive importance may, moreover, be attributed to our control test according to which, if 300  $\gamma$ /kg of eserine was administered to a dog or cat, in 4 cases we, upon the excitation of the hypogastricus, did not notice any lowering of the blood pressure, which should certainly have had to take place if any post-ganglionic cholinergic innervation had taken place. On the basis of the experiments carried out by us up to now, we were able to establish the fact that, for the reversal of the adrenalin reaction of the uterus, it is not possible to make any alteration taking place in the connection with the central nervous system responsible.

Our next question was whether it is not some simple mechanical effect affecting the uterus muscle system that may possibly play a part in the production of the reaction. In order to decide this question, we investigated the question whether the alteration of the initial tension of the muscle may not possibly cause the reversal of the adrenalin reaction. In the course of our investigations carried out „in situ“ as well as „in vitro“, on the uteri of 5 pregnant and 5 non-pregnant cats, we found that any alteration of the initial tension will at most influence the adrenalin reaction as to its magnitude, but never as to its phase.

Knowing the influence exercised by steroids on the metabolism of the uterus muscle, we investigated the possibility of a decisive influence being exercised by the shifting of the ion environment. We found, however, that any alteration within physiological limits of the quantities of K and Ca will in the case of pregnant uteri (4 animals) as well as in the case of non-pregnant uteri (5 animals) always acts as a stimulus of uniform significance and will not influence the adrenalin reaction as to its phase.

An entirely new light was shed on the problem by our observation, according to which, in order to obtain the reversal of the reaction of the uterus by means of progesterone, an intact non-pregnant animal possibly required



treatment during many weeks, whereas if, maintaining the circulation of the uterus, castration was previously carried out, the reaction became reversed within a few hours. We would emphasize, that we worked with such doses of progesteron as can be considered physiological, as in our experiments of a more

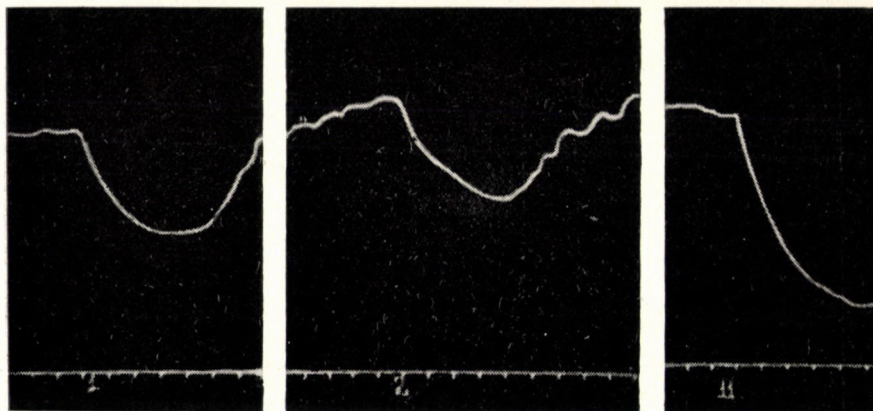


Fig. 3.

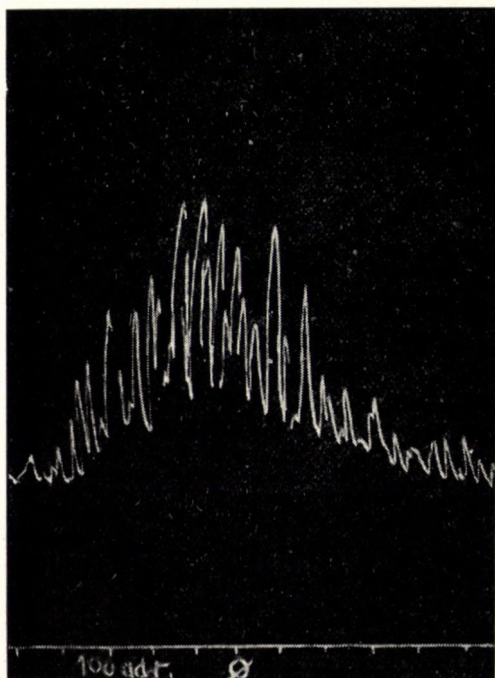
Uterus in situ of a normal non-pregnant cat. (a) 10  $\gamma$  of adrenalin, (b) 10 mg. of Lutocyclin i. v. (c) 10  $\gamma$  of adrenalin 3 hours after the administration of the Lutocyclin.

chronic nature we administered i. p. 0,5–1,0 mg of Lutocyclin sol. ol. Ciba. This observation made by us has increasingly ruled out any possibility of some substantial change of metabolism affecting the uterus muscle being considered as a causal factor. See figures 3 and 4.

Our problem was cleared up further by our observation according to which the reversal takes place practically promptly (substantially with the few minutes necessary for the manipulation), if progesteron (Luto-

Fig. 4.

The isolated uterus of a castrated cat 24 hours after the administration of 3 mg of progesteron.





cyclin Ciba i. v. to 5 animals) is administered intravenously to a castrated non-pregnant female. See fig. 5. We consider it also important to mention our observation, according to which it was in vain that 10–15 mg of Lutocyclin i. v. was administered by us to a non-pregnant normal animal, in the 10 animals examined the reversal did not take place even 3 hours after the administration of the injection.

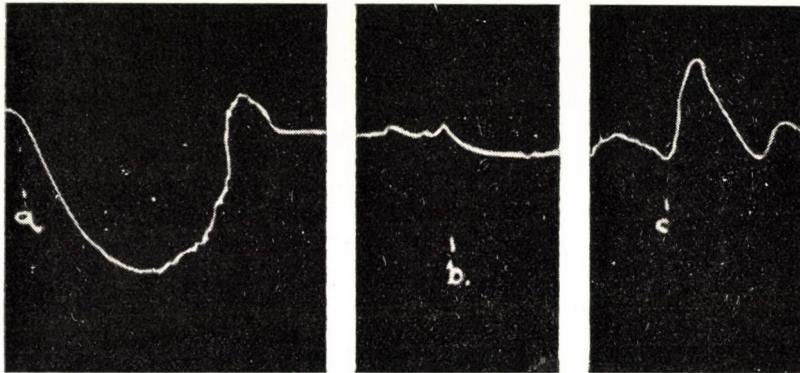


Fig. 5.

Uterus in situ of castrated cat one week after the operation. (a) 10  $\gamma$  of adrenalin, (b) 10 mg of Lutocyclin i. v. (c) 10  $\gamma$  of adrenalin 10 minutes after the administration of the Lutocyclin.

On the basis of our investigations we may state that the reversal of the adrenalin reaction of the uterus muscle system can be brought about by a treatment with progesteron. Further, that mechanical factors affecting the muscle system or the alterations of the ion environment cannot be made responsible for the reversal. Similarly, we may also rule out the possibility of any such alteration taking place in the metabolism of the muscle system in consequence whereof the adrenalin effect would be reversed and further also the possibility of any change taking place in the innervation mediated through the nervus hypogastricus having played any part. The results of our experiments carried out up to now and our investigations in course of being effected for approaching the problem from several angles, permit us to conclude that the cause of the adrenalin reversal reaction is to be found in some effect exercised by progesteron on the ganglionic or still more on the myoneural synapsis.

Our further problem is whether it is a luteoid, anaesthetic or some other up to now unknown effect of progesteron that produces the reversal. The question is rendered more complicated by the fact that, in order to ensure that reversal should take place upon the administration of physiological doses, the animal had previously to be castrated. Moreover, even thus the reversal does not take place in the case of all animals, because in the case of



2 among our 20 animals, the reaction failed to become reversed in spite of castration and treatment with progesteron. It seems logical to suppose, that, by the castration some supposedly antagonising effect is being eliminated (folliculoid), or, that the increased appearance of some supposedly synergist hormone (gonadotrophin) is produced. Whichever possibility should exist, our observations made in the course of the investigations of the adrenalín reversal reactions of the uterus point in any case to the existence of close relations between the endocrin and the neural systems. On the basis of the results of our investigations effected up to now, it may be hoped that our further investigations will bring us nearer to the solution of the mysterious problem of inhibition by the sympathetic system.

#### SUMMARY

The substance liberated from the uterus after hypogastric excitation, carried out in „in situ“ and in „in vitro“ tests, after extirpation of the *nervus pelvici*, on pregnant and non-pregnant cats and dogs, proved to be of a nature similar to adrenalín in its biological effects. Thereby any variation which might have taken place in the hypogastric system in connection with the pregnancy may be ruled out as a possible cause of the reversal. Similarly, the hypothesis as if two kinds of adrenalín should be present in the reversal can be ruled out. Any alteration of the initial tension of the uterus muscle or any alteration of the K and Ca ion environment does not influence the reaction. The fact that, by means of progesteron (Lutocyclin) administered in vitro the reversal can be produced promptly on castrated animals, points to the conclusion that it is some alteration taking place in the sympathetic system that can be rendered responsible for the reversal of the reaction. This effect of progesteron, as well as the sensibilizing effect of castration suggests the existence of important relations between the endocrin and the neural systems and indicates a further foad for approaching the question of the sympathetic inhibition from a new angle.

#### LITERATURE

1. Kurdinowsky E. M., Arch. Gynaek. 76 :282<sup>3</sup>. 1905.
2. Cushny A. R., J. of Physiol. 35 : 1. 1906.
3. van Dyke H. B. and Gustavson R. G., J. of Pharmacol. 37 : 379. 1929.
4. Gustavson R. G. and van Dyke H. B., Proc. Soc. exper. Biol. a. Med. 27 : 744. 1930.
5. Kennard J. H., Amer. J. Physiol. 118 : 190. 1937.
6. Langley J. N., J. Physiol. 33 : 374. 1905.
7. Cannon W. B. and Rosenblueth A., Automatic neuroeffector systems, New York. 1937.
8. Bacq Z. M., Compt. Rend. Soc. Biol. 127 : 341. 1938.
9. Lissák K., Science 88 : 434. 1939.
10. Bacq Z. M., Ann. de Physiol. 10 : 467. 1934.
11. Euler U. S., Acta Physiol. Scand. 16 : 63. 1948.
12. Cannon W. B. and Rosenblueth A., Amer. J. Physiol. 104 : 557. 1933.
13. Cannon W. B. and Bacq Z. M., Amer. J. Physiol. 96 : 392. 1931.
14. Sherif M. A. F., J. of Physiol. 85 : 298. 1935.



Дежё Надь и Кальман Лисшак:

## „ОБРАТНАЯ РЕАКЦИЯ НА АДРЕНАЛИН МУСКУЛЯТУРЫ МАТКИ“

(Биологический Институт, Печ)

## Резюме:

Вещество, выделяемое маткой после гипо-гастрического возбуждения, примененного в опытах „in situ“ и „in vitro“, после удаления тазового пера над беременными и небеременными кошками и собаками — оказалось сходным с адреналином характера по своему биологическому действию. Тем самым, какие-бы то ни были изменения, которые могли бы иметь место в гипо-гастрической системе в связи с беременностью могут быть исключены, в качестве возможных причин реверсирования реакции. Тахим-же образом, гипотез о наличии двух родов адреналина в реверсировании может быть исключен. Какое-бы то ни было изменение в начальном напряжении мышечной системы утеруса, или какое-ни будь изменение  $K$  и  $Ca$  ионной среды не влияет на реакцию. Обстоятельство, что посредством применения прогестерона (Лютотиклин) „in vitro“, реверсирование может быть произведено немедленно у кастрированных животных, ведет к заключению, что причиной реверсирования реакции является какое-то изменение, имеющее место в симпатической системе. Это действие прогестерона, как и сенсбилизирующее влияние кастрации, указывают на существование важных связей между эндокринной и центральной нервной системами и ведет на путь изучения симпатических заторможений с новой точки зрения.



## PSYCHOGENIC ELEVATION OF BODY TEMPERATURE IN HEALTHY PERSONS

By :

*T. Gotsev and As. Ivanov*

(Physiological Institute, Sofia University. Director: Prof. D. P. Orahovats.)

(Received: 10. VI. 1950.)

As is well known, the average figures for the body temperature of healthy subjects show considerable individual variations. Temperatures taken in the axilla do not as a rule exceed 37 °C. *Jürgensen* (1) by repeated observations on healthy subjects established as early as last century that the mean body temperature taken in the rectum during the day was 37.34 °C., while at night it was 36.91 °C., with an upper limit of 37.7 and a lower of 36.2 °C. More recent studies by *Hasegawa*, *Yoshioka*, *Utida* and *Hitomi* (2), undertaken on 682 healthy students, showed that the mean body temperature, taken in the axilla between 2.30 and 4 p. m. in June, was 36.874 °C.

The average temperature taken by us in the axilla of male and female students of the Medical Faculty of Sofia in June, before and after noon, was 36.8 °C.

The fact that a slight elevation of temperature may occur in healthy subjects is also well known. *Bogert*, *Frank* and *Moravec* (3) taking temperatures in the mouths of 750 healthy children, found that, of those between 7 and 8 years of age, 43% had a temperature above 37.2 °C., between 9 and 13—33%, and of the older ones 8%. And clinically, too, we know that an elevation of the temperature above 37.2, taken in the mouth, or above 37.7 taken in the rectum, is nothing very unusual in perfectly healthy individuals and cannot be taken as an indication of illness.

The temperature of the surrounding air is also of importance for the degree of the body temperature. Persons working in exceptionally warm surroundings show an elevation of body temperature without any discernable symptoms of disease. *Doichinov* (4) has observed temperatures, taken in the axilla, rising to 37.9 °C. in persons working in very hot rooms without there being any pathological or psychological influence to account for such a rise.

Muscular activity tends to heighten the body temperature. *Bikov* 5 and *Raevski* 6 have observed an elevation of body temperature up to 39 and 40 °C. during intense physical work.



Increased mental activity is similarly liable to raise temperatures by  $0.1^{\circ}\text{C}$ . Elevations of this kind have been observed by *Davy* (7) in persons concentrating their attention for 2–5 hours. *Bogert*, *Frank* and *Moravec* (3) consider that certain elevations of body temperature may be caused by factors of a psychological nature. *Takade* (8) has measured the temperatures of artisans undergoing examinations and found that the successful candidates had an average temperature of  $37.5^{\circ}\text{C}$ ., whereas those that failed had  $37.6^{\circ}\text{C}$ . After 30 minutes rest the temperature fell by  $0.2^{\circ}\text{C}$ . Temperatures were taken under the tongue.

Psychogenic elevation of temperature is known to clinicists in patients during convalescence when they receive visitors. *Pramatarov* (9) has reported slight elevations of temperature of a psychogenic nature on visiting days or before operations in patients in the gynaecological and maternity ward of Sofia University Clinic.

It is well known that during examinations students show certain symptoms of vegetative excitation, apparent in an accelerated pulse, accelerated breathing, dilated pupils, reddening of the skin of the face, trembling, perspiration etc. As is also well known, the adrenalin entering the blood-stream in such cases has a thermogenic effect. On exposure of the body to cold more adrenalin is secreted and enters the blood-stream, in consequence whereof metabolism is increased and the body temperature rises. As a rule the suprarenal glands react quickly, stimulated to increased production by impulses communicated through the nerves. Bearing these facts in mind, it is to be expected that healthy students may exhibit slight elevations of temperature.

The purpose of the present paper is to communicate the results of our investigation of the body temperature of healthy students of the Medical, Natural Science and Mathematical, and Historico-Philological Faculties immediately before and after their yearly examinations. Our observations were carried out during the June and September sessions of 1949, and the January session of 1950. The temperatures were measured with ordinary maximum thermometers, placed in the left axilla, where they remained for ten minutes. The students were seated, physically entirely inactive, in the same room in which the examination had been held, or in another neighbouring room. In the latter case the students had not expected to have their temperature taken. The skin of the axilla was wiped with a dry cloth. The temperatures were taken immediately after the examination, in several cases also immediately before it. In some cases temperatures were taken at stated intervals after the examination. In several other cases, while taking the temperature, we also counted the pulse in the radial artery. Students showing the slightest signs of indisposition, common colds etc. were excluded from observation.



Our first observation was made in 1947 in the lecture room when during a lecture on the regulation of body heat the temperature in the axilla was measured on two students, one of whom had to answer three questions as during a colloquium, for which he had to reflect for some time, while the other had no questions set to him. After 15 minutes the first-named student had a temperature of  $37.3^{\circ}\text{C}$ ., the second student one of  $36.6^{\circ}\text{C}$ .

a) *June Session*

Our observations during the June session comprised 167 male and 44 female students, or 211 in all, of whom 165 belonged to the Medical Faculty and 23 each to the Natural Science-Mathematical and the Historico-Philological Faculties.

The temperatures were measured during examinations in physiology for the three faculties and examinations in medical chemistry, microbiology and diseases of the eye for the medical students.

The observations were carried out in the rooms in which the examinations were held, the room temperature being between  $20^{\circ}$  and  $22^{\circ}\text{C}$ .

Of the 211 cases under observation 16 had a temperature under  $37^{\circ}\text{C}$ , 9 of these being men with an average temperature of  $36.8^{\circ}\text{C}$ . and 7 women with an average of  $36.7^{\circ}\text{C}$ .

The remaining 195 students — 158 male and 37 female had a temperature between  $37^{\circ}\text{C}$ . and  $38.2^{\circ}\text{C}$ .

The relative percentages of the temperature of male and female students are as follows:

$t^{\circ}$	male	female
	%	%
$37,0^{\circ}$	8,2	13,5
$37,1^{\circ}$	6,3	8,1
$37,2^{\circ}$	7,6	16,2
$37,3^{\circ}$	13,9	10,8
$37,4^{\circ}$	18,3	13,5
$37,5^{\circ}$	15,8	13,5
$37,6^{\circ}$	12,6	5,4
$37,7^{\circ}$	7,0	5,4
$37,8^{\circ}$	5,7	8,1
$37,9^{\circ}$	3,2	2,7
$38,0^{\circ}$	0,6	2,7
$38,2^{\circ}$	0,6	—

Setting the cases with temperatures under  $37^{\circ}\text{C}$ . aside, the average temperature of the male and female students was  $37.4^{\circ}\text{C}$ .



During this session we counted the pulse rate of 128 male and 37 female students after the examination. In all cases we found acceleration, i. e. over 72 beats a minute. The average pulse was 99 for male and 98 for female students, the lowest figure being 78 for both sexes and the highest 132 for the male and 120 for the female students.

b) *September Session*

The observations were carried out in connection with the examinations in physiology for students of medicine, dental medicine, natural history, pharmaceuticals and pedagogics and with examinations in pharmacology and surgery for medical students.

Of 407 students under observation during this session 29 had a temperature under  $37^{\circ}\text{C}$ ., 14 of these being men, with an average temperature of  $36.7^{\circ}\text{C}$ ., and 15 women, with an average temperature of  $36.6^{\circ}\text{C}$ . The remaining 378 students — 273 male and 105 female had temperatures of  $37^{\circ}\text{C}$ . and above.

The relative percentages of the temperature of male and female students are as follows:

$t^{\circ}$	male	female
	%	%
$37,0^{\circ}$	5,9	12,4
$37,1^{\circ}$	3,7	5,7
$37,2^{\circ}$	12,8	13,3
$37,3^{\circ}$	11,0	6,7
$37,4^{\circ}$	8,8	12,4
$37,5^{\circ}$	19,4	18,1
$37,6^{\circ}$	13,2	12,4
$37,7^{\circ}$	9,5	6,7
$37,8^{\circ}$	7,0	7,6
$37,9^{\circ}$	5,9	3,8
$38,0^{\circ}$	2,2	1,0
$38,1^{\circ}$	0,3	—
$38,2^{\circ}$	0,3	—

Setting aside those whose temperature remained under  $37^{\circ}\text{C}$ ., the average temperature of the male students under observation was  $37.5^{\circ}\text{C}$ . and that of the women  $37.4^{\circ}\text{C}$ .

The pulse rapidity after the examination was investigated in 289 cases, 198 male and 91 female. During this session, too, the students under observation showed an acceleration of the pulse, the average rapidity being 111 for male students and 87 for female. The lowest figures were 78 for both sexes, and the highest 132 for male and 130 for female students.



During the two sessions the temperatures of 108 male and 26 female students or 134 students in all, were taken twice, i. e. before and after the examination. Of these only four, 3 male and 1 female student had a temperature before the examination under  $37^{\circ}\text{C}$ . Of these four students only one showed no elevation at the end, the others showing  $37^{\circ}\text{C}$ .,  $37.2^{\circ}\text{C}$ . and  $37.7^{\circ}\text{C}$ . respectively. It is an interesting fact that of the 134 students under observation 9 showed no elevation of temperature after the examination although they were running a slight temperature before it. This suggests that a certain number of the subjects under observation that are indicated as having a temperature under  $37^{\circ}\text{C}$ . may have had a higher temperature before the examination began. So that for these also sitting for an examination is connected with a rise in the body temperature. Unfortunately however the temperatures were not taken before and after the examination in every case. In the future we shall undertake systematic observations in this respect. It should be noted also that the case which showed no elevation of temperature either before or after the examination was a student who showed no discoverable signs of excitement and who failed. As we shall show below, students who are insufficiently prepared do not as a rule exhibit elevation of temperature.

In 74 cases out of 134 the temperature was lower at the end of the examination than it had been at the beginning, the drop being of  $0.1^{\circ}\text{C}$ . in 24 cases,  $0.2^{\circ}$  in 19,  $0.3^{\circ}$  in 13,  $0.4^{\circ}$  in 8,  $0.5^{\circ}$  in 3,  $0.6^{\circ}$  in 3,  $0.9^{\circ}$  in 3,  $1.4^{\circ}$  in 1. In 21 cases the temperature before and after the examination was the same, in the remaining 39 we observed a rise of from  $0.1^{\circ}$  to  $0.5^{\circ}\text{C}$ . after the examination.

The pulse rate of 105 students examined in June and September was investigated not only after the examination, but also before its commencement. Of these 83 had an average pulse rate of 104 beats per minute, the lowest figure being 80 and the highest 120. With some of the subjects under observation the pulse rate remained constant, with others it decreased, while with others yet there was acceleration after the examination. Not a single student had a pulse of less than 78 beats per minute. Only one female student had 60 after the examination with a temperature of  $37.8^{\circ}\text{C}$ .; she passed with honours.

As regards the marks obtained by the students we may note that those who failed and those classed as fair had an average of  $37.4^{\circ}\text{C}$ ., those classed as good  $37.5^{\circ}\text{C}$ . and very good —  $37.4^{\circ}\text{C}$ .

#### c) *January Session*

Observations were carried out on 443 students, of whom 337 male and 106 female, in connection with examinations in physiology and diseases of the eye, which were held under three different examiners. The temperature of the rooms was between  $20^{\circ}$  and  $23^{\circ}\text{C}$ .



Of the cases observed 26 persons — 20 male and 6 female — had a temperature below  $37^{\circ}$  C., the remaining 417 — 317 male and 100 female — varying from  $37^{\circ}$  to  $38.4^{\circ}$  C.

The relative percentages of the temperatures of male and female students are as follows :

$t^{\circ}$	male	female
	%	%
$37.0^{\circ}$	6,6	10
$37.1^{\circ}$	4,1	9
$37.2^{\circ}$	7,9	9
$37.3^{\circ}$	12,6	14
$37.4^{\circ}$	10,1	8
$37.5^{\circ}$	10,1	16
$37.6^{\circ}$	14,8	8
$37.7^{\circ}$	11,0	12
$37.8^{\circ}$	8,8	10
$37.9^{\circ}$	5,0	3
$38.0^{\circ}$	4,7	1
$38.1^{\circ}$	1,9	—
$38.2^{\circ}$	1,0	—
$38.3^{\circ}$	0,6	—
$38.4^{\circ}$	0,6	—

The highest percentage group for the men students was that of those with  $37.6^{\circ}$  C., and  $37.5^{\circ}$  C. for the women. In general, it may be noted that during this session also the female students exhibited slightly lower temperature than the male. While a number of men students reached a temperature of  $38.4^{\circ}$  C., the highest figure reached by the women was  $38^{\circ}$  C.

During this session we measured the blood pressure of 6 students with elevated temperatures. For this purpose the mercury manometer of Riva-Rocci was employed, observations being carried out at the end of the examination, immediately after measuring the temperature. The results are as follows. In one case the pressure was RR 180/100. Six hours later the blood pressure of the same student was 130/70. In another case it was RR 170/105 and fell to RR 145/90 after 6 hours, and in the remaining 4 cases the pressure was raised, being 150/90, 145/90, 148/80 and 130/80.

As regards the relationship between the body temperatures and the marks obtained the following may be said. Of the 26 cases already mentioned whose temperature after the examination was normal, 16 failed, 7 were fair and only 3 good. Of the remaining 417 cases whose temperature was over  $37^{\circ}$  C., the average temperature of those who failed was  $37.3^{\circ}$  C., of those with „fair“ —  $37.4^{\circ}$  C., „good“ —  $37.5^{\circ}$  C. and „very good“ —  $37.6^{\circ}$  C.



d) *Examinations in the Physiological Institute of the University of Budapest*

In the autumn of 1949 one of us had the opportunity of working for a time in the Physiological Institute of Budapest University, and by the courtesy of the examiner in physiology was able to measure the temperatures of 7 students after their examination. Of these 2 had a temperature under  $37^{\circ}\text{C}$ ., 1 had  $37.5^{\circ}$ , 3—  $37.6^{\circ}$  and 1 —  $37.9^{\circ}$ . The first two, who exhibited no elevation of temperature, as well as the last with the highest temperature, failed in their examination.

*Discussion*

During three examination sessions in Sofia and one in Budapest we had the opportunity of measuring the body temperature of 1068 students, of whom 795 male and 273 female. Only 73 of them, 44 male and 29 female, making 6.8%, had a temperature under  $37^{\circ}\text{C}$ . It should be remarked, however, that a certain number of these last had exhibited an elevation of temperature above  $37^{\circ}\text{C}$ . before the examination. The remaining 995 persons, i. e. 93.2%, exhibited temperatures between 37 and  $38.4^{\circ}\text{C}$ . Of these 751 were men and 244 women. The average body temperature of the men was  $37.5^{\circ}\text{C}$ . and of the women  $37.4^{\circ}\text{C}$ .

The relative percentages of the temperatures of male and female students in the three sessions are as follows:

$t^{\circ}$	male	female
	%	%
$37,0^{\circ}$	6,6	11,5
$37,1^{\circ}$	4,4	7,4
$37,2^{\circ}$	9,6	11,9
$37,3^{\circ}$	12,2	10,2
$37,4^{\circ}$	11,3	10,7
$37,5^{\circ}$	14,6	16,8
$37,6^{\circ}$	14,1	9,4
$37,7^{\circ}$	9,6	8,6
$37,8^{\circ}$	7,4	8,6
$37,9^{\circ}$	4,9	3,7
$38,0^{\circ}$	2,9	1,2
$38,1^{\circ}$	0,9	—
$38,2^{\circ}$	0,7	—
$38,3^{\circ}$	0,3	—
$38,4^{\circ}$	0,3	—

The rise in the candidates' temperatures sets in before they are called to the examiner's table. In this respect there are individual variations. Some



students exhibit temperatures above  $37^{\circ}\text{C}$ . as early as the morning when they enter the examination hall to await their turn. The elevation of the candidates' temperature usually continues about 1 to 2 hours after the end of the examination, after which the temperature gradually returns to normal. In some cases it may remain elevated for a longer time. In one case the temperature of a female student was observed for 24 hours. The candidate had a temperature of  $37.5^{\circ}\text{C}$ . as early as 8 a. m. on the morning of her examination. At the beginning of the examination itself it had risen to  $38^{\circ}\text{C}$ ., and at the end had dropped to  $37.6^{\circ}\text{C}$ . This temperature persisted till 10 p. m. but had returned to normal by 7 o'clock of the following morning. In this case the elevation of temperature continued over 14 hours.

During the various sessions control measurements were undertaken of the body temperature of students who were attending the examinations merely as listeners. The measurements were taken with the same thermometers and under the same conditions as for the candidates. Mostly the candidates and the listeners were sitting side by side on benches or chairs. Out of 40 cases not one exhibited an elevation of temperature above  $37^{\circ}\text{C}$ .

Regarding the relationship between the temperatures reached and the grades attained by the students in their examinations, our impression is that students with unsatisfactory marks show no elevation of temperature or only a slight one. Students who enter the examination without serious preparation exhibit no discoverable signs of agitation or intense mental activity and have no elevation of temperature.

No direct relationship between the tremor exhibited by some students during their examination and the height of their temperature has been established. Considerable tremor may go together with temperatures of only  $37.2^{\circ}\text{C}$ .

A certain relationship may be established between perspiration and temperature. Students who continue to perspire to the end of the examination have higher temperatures.

Considering that intense mental activity during the examination is accompanied by accelerated pulse, accelerated breathing, dilated pupils, trembling, an increase of the perspiration and vasomotor changes in the skin of the face, and bearing in mind, too, that the elevation of temperature sets in with the excitement caused by the examination and persists for some hours after, we have good reason to suppose that the body temperature rises owing to an increase of the general metabolism, resulting from the vegetative excitation and an increase of the adrenalin secretion.

#### SUMMARY

The body temperature of 1068 students was measured immediately after the regular examinations in physiology and other subjects. In 6.8% the temperature was under  $37^{\circ}\text{C}$ ., in all the remaining cases it was between  $37^{\circ}$  and  $38.4^{\circ}\text{C}$ . The largest per-



centage of cases under observation had a temperature of  $37.5^{\circ}\text{C}$ . In 135 cases the temperature was taken twice, both before and after the examination, and it was established that a certain number of cases which exhibited no increase of temperature after the examination had elevated temperatures before. Unsuccessful students have lower temperatures.

In 40 control cases taken from among students attending the examinations as listeners not one had a body temperature above  $37^{\circ}\text{C}$ .

The cause of the psychogenic elevation of temperature is to be ascribed to the increase of the general metabolism, resulting from the vegetative excitation and an increase of the adrenal secretion.

## LITERATURE

1. *Jürgensen*, Die Körperwärme des gesunden Menschen, Leipzig, 1873.
2. *Hasegawa, Yoshioka, Utida and Hitomi*, Mitt. Tokyo med. ges. Ärztinn 7. H. 2. (1937.)
3. *Bogert, Frank and Moravec*, J. Pediat. 10. p. 466. (1937.)
4. *Doichinov, L.*, Clinica Bulgara, T. XIX, p. 52. (1948.)
5. *Bikov, K. M.*, Text-book of physiology p. 278. Moscow, 1945.
6. *Raevski*, Physiol. Journal (Russian) T. 24. p. 901. (1938.)
7. *Davy*, Cited after Luciani's Text-book of human physiology p. 497. Jena, 1911.
8. *Takada R.*, Bull. nav. med. Assoc. (Tokyo) 26. N 3. (1937.)
9. *Pramatarov A.*, Clinica Bulgara, T. XVIII, p. 264. (1947.)

Физиологический Институт. Директор: Проф. Д. П. Ораховац, София.

Т. Гоцев и А. С. Иванов:

## ПСИХОГЕННОЕ ПОВЫШЕНИЕ НА ТЕЛЕСНУЮ ТЕМПЕРАТУРУ ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ

### Выводы

Известно, что во время годовых экзаменов, студенты дают симптомы раздражения вегетативной нервной системы, выраженной в расширении зениц, ускорении сердечной деятельности, усиленного потоотделения, дрожания, покраснение лица, и др.

Авторы исследовали температуру тела студентов и студенток трех факультетов, непосредственно перед и после явления на экзамен, в течении трех экзаменационных сессий, июньской и сентябрьской 1949 г. и январской сессии 1950 г., а также и на семи студентах медицинского факультета в Будапеште. В некоторых случаях температура была исследована в течении всего дня экзамена.

Температура измерялась обыкновенными ртутными термометрами, поставленными в левую подмышечную впадину. Измерение производилось в стороне от экзаменационного стола при полном телесном спокойствии. Наблюдения делались только над лицами, которые не показывали никаких признаков заболевания или нерасположения. В некоторых случаях наблюдения были сделаны неожиданно, без предупреждения студентов.

Иногда изчислялась и частота пульса. Наблюдения производились в экзаменационных залах, где температура воздуха колебалась между  $20-23^{\circ}\text{C}$ . Экзамены производились девятью различными экзаменаторами, по физиологии, химии, микробиологии, глазным болезням, фармакологии и хирургии.

Наблюдения обхватывают 795 студентов и 273 студентки, то есть всего 1068 человек. Из них 44 студента и 29 студенток, то есть всего 73 человека имели температуру ниже  $37^{\circ}\text{C}$ . Это составляет 6,8%. Некоторые из них однако показывали повышенную температуру непосредственно перед экзаменом. Остальные 995 человек — 751 студент и 244 студентки



имели температуру между 37 и 38,4°C. Это составляло 93,2%. Средняя телесная температура была 37,5°C у студентов, а у студенток — 37,4°C.

Процентное соотношение температуры студентов и студенток трех экзаменационных сессий следующее:

+°C	М. %	Ж. %
37,0	6,6	11,5
37,1	4,4	7,4
37,2	9,6	11,9
37,3	12,2	10,2
37,4	11,3	10,7
37,5	14,6	16,8
37,6	14,1	9,4
37,7	9,6	8,6
37,8	7,4	8,6
37,9	4,9	3,7
38,0	2,9	1,2
38,1	0,9	—
38,2	0,7	—
38,3	0,3	—
38,4	0,3	—

Повышение телесной температуры начиналось известное время прежде чем студент был вызван к экзаменационному столу, где он получал вопросы и оставался думать о них в продолжении 20—30 минут, после чего давал ответ. Некоторые студенты имели температуру выше 37°C рано с утра в день экзамена. Наблюдения показали, что обыкновенно самая высокая температура наблюдалась перед тем, как студент начал отвечать, после чего постепенно начинала спадать и в течение часа — двух после экзамена доходила до норм. В некоторых случаях однако она продолжалась более продолжительное время. В одном случае повышенная температура длилась больше 14 часов.

Во время трех экзаменационных сессий делались контрольные измерения телесной температуры лиц, которые присутствовали как слушатели. Измерения делались теми же термометрами и при тех же условиях как и в других случаях. Обыкновенно кандидаты, являющиеся на экзамен и слушатели сидели рядом на скамейках или стульях. Из 40 контрольных случаев ни один не имел температуру выше 37°C.

Результаты показывают, что студенты, которые давали неудовлетворительные ответы, имели вообще более низкую температуру чем другие.

Никакой связи между дрожанием и высотой температуры не устанавливается.

Авторы считают, что при интенсивной работе связанной с психическим возбуждением наступают известные изменения в нервно-гуморальном механизме, регулирующем телесную температуру. Импульсы от коры мозга влияют на подкорковые узлы и специально на находящиеся в диэнцефалоне вегетативные центры, вследствие чего наступает возбуждение вегетативной нервной системы, главным образом симпатической нервной системы. Последствием этого является повышение обмен веществ в организме и сверхпроизводства тепла. Авторы считают, что вместе с этим наступает и увеличенное отделение адреналина, калоригенное действие которого хорошо известно.



## THE ADRENOLYTIC AND SYMPATHICOLYTIC EFFICIENCY OF ERGOT ALKALOIDS\*

By:

László Gyermek, László Sztanyik and Edit Láng

(Publication of the Pharmacological Institute, University Budapest.)

(Received: 18. II. 1950.)

Since the sympathetic blocking compounds are known, the question has frequently arisen in connection with their mode of action, why these substances are, in different degrees, inhibiting the effects of adrenaline as well as the phenomena produced by exciting the sympathetic nerves. Thus these compounds were gradually divided into two groups: adrenolytica and sympathicolytica. Although these two effects could not be definitely separated from one another, one group of compounds was rather of adrenolytic effect, whereas the other had in addition an intense paralysing effect on the sympathetic system, which means, that it possessed also sympathetic blocking properties.

The adrenolytic and sympathicolytic compounds are known in the latest literature as „Adrenergic-blocking“ substances. There also arises the question, whether these compounds do only paralyse the *stimulating* effects of adrenaline, leaving the inhibitory effects of adrenaline uninfluenced, with the exception of its action on the intestine. The latter effects as: diminution of blood-pressure, dilatation of the bronchi, are connected with the chemical structure of the compounds of the phenyl-alkyl-amine group. *Lands* (1), *Nickerson*, *Goodman* (2).

Significant new results were achieved in this question by *Coret* and *Van Dyke* (3), by their statement, that the „adrenaline reversal“ (a decrease of blood-pressure caused by adrenaline after adrenergic blocking substances) can be reversed by a large dose of phenyl-alkyl-amine derivatives (Aleudrine, Butanephine) although these compounds employed in great doses, are of a blood-vessel dilatating effect. Therefore, according to them, these latter compounds competitively antagonise those blood-vessel dilatating receptors, which should have been excited by adrenaline. They have, besides, established a secondary bloodpressure raising effect of adrenaline. (For instance, adrenaline, administered after sympathicolytic agents and Aleudrine, does not cause any decrease of the blood-pressure, but, on the contrary, a slight

\* This study has been aided by the grant of the Hungarian Academy of Sciences.



rise of the same.) This phenomenon of sympathotapenolysis, described by *Coret* and *Van Dyke*, seems to be suitable to determine the efficiency of adrenaline, and the sympathetic-blocking compounds, by a new method, entirely different from the systems hitherto used. We have found, as a result of numerous and precise experiments, that by a dose larger than the usual of the sympathetic-blocking agents, this secondary, blood-pressure raising effect of adrenaline can be inhibited. Based on this observation, we propose to carry out a minute investigation on the demeanour of the various adrenolytica and sympatholytica.

In the first series of our experiments we compared the adrenolytic and sympatholytic effects of the ergot alcaloids.

### METHODS

The experiments were carried out on cats in urethane narcosis (administered intra-peritonally in doses of 1 g/kg). At the beginning of the test we administered i. v. 1 mg/kg of atropine. The blood-pressure was registered in the carotid artery by means of a mercury manometer. The splanchnic nerve was prepared on the left side, and was stimulated with the help of a *Ludwig* electrode, by means of a *Dubois-Reymond* sliding inductor. Alternating current of 4 V voltage and pf 50 cycle/sec. frequency, was introduced into the primary coil. Stimulation was carried out with a slide distance of 10–13 cm. The voltage in the secondary coil amounted to 3.4–0.7 V, measured with an alternating-current voltmeter of the „Multavi No. 2“ type. The time of stimulation amounted to 30–60 sec. Adrenaline was administered in such doses into the femoral vein (1–15  $\mu$ g/kg), as to obtain a rise of blood-pressure of equal size as that, resulted by the stimulation of the splanchnicus. Thus the comparison of similar blood-pressures was made possible. In some tests nor-adrenaline and sympatol were also employed for the purpose of comparison.

### RESULTS

The course of the experiments was the following:

1. A rise of the blood- pressure was produced by the stimulation of the splanchnicus.

2. A rise of blood-pressure of equal size to that produced by the splanchnic nerve stimulation, was effected by means of 1–15  $\mu$ g/kg adrenaline, administered intravenously.

3. The ergot alcaloid to be investigated was injected intravenously in a quantity, in which it reversed already the blood-pressure raising effect of adrenaline, but it did not yet restrain the blood-pressure rise, effected by the stimulation of the sympathetic nerve.

4. 150–250  $\mu$ g/kg of Aleudrine was administered intravenously.

5. The administration of the formerly applied quantity of adrenaline caused again a rise of the blood-pressure.

6. By injecting intravenously an additional dose of ergot alcaloid; we tried to prevent completely the blood-pressure raising effect of adrenaline.

7. After the success of this experiment, we investigated, whether the splanchnic nerve stimulation would not produce a rise of the blood-pressure? This proved to be ineffectual.



8. Under the experimental conditions described above (by eliminating the blood-vessel dilatating effect of adrenaline) if there was no rise of the blood-pressure any more after the administration of adrenaline, we succeeded in binding all the presso-receptors sensitive to adrenaline by sympathicolytic agents. The blockade of the effects of the adrenaline has been complete.

We tried to find out in our first experiments, whether we could not work with smaller quantities of Aleudrine, instead of the large doses of *Coret* and *Van Dyke* (1 mg/kg)? According to results of the experiments, 0,1 mg/kg was not sufficient for the blockade of the vasodilatator receptors, but 10–15 minutes after the administration of 0,2–0,25 mg/kg of Aleudrine, this was indubitably proved, because, 1. no further sinking of the blood-pressure could be effected by renewed injections of Aleudrine, 2. the administration of adrenaline effected in each case a rise of blood-pressure. The blood-pressure raising effect of adrenaline was only stopped, when all the presso-receptors were already paralysed by the administration of new and new quantities of ergot alkaloids. In such cases the blood-pressure rise caused by the stimulation of the splanchnicus, could also be entirely restrained.

The experiments were carried out with Dihydroergocornine (DHO) Dihydroergotamine (DHE) and Ergotamine.

One of our tests with DHO is illustrated in Fig. 1. Curve 1. illustrates a splanchnic nerve stimulation, carried out with 0,9 volts, which effected a blood-pressure rise equal to that, produced by 7  $\mu$ g/kg of adrenaline. After the administration of 0,1 mg/kg of DHO, the effect of the 7  $\mu$ g of adrenaline is reverted, but the stimulation of the splanchnicus is not yet entirely inhibited. According to curve 2, Fig. 1. after the administration of 0,2 mg of Aleudrine, 7  $\mu$ g of adrenaline are again slightly raising the blood-pressure, whereas the splanchnic nerve stimulation, caused an approximately similar rise in the blood-pressure. Between curves 2 and 3 further DHO doses were administered. Curve 3 shows, that after the administration of 0,6 mg of DHO the adrenaline, the splanchnic stimulation was not yet entirely blocked, but after 0,7 mg of DHO neither the splanchnic nerve stimulation, nor the dose of 7  $\mu$ g adrenaline could effect any rise of the blood-pressure.

Generally 0,05–0,15 mg of DHO were sufficient to reverse the pressor effect of adrenaline, with the exception of two cases, when gradually 0,20–0,30 mg/kg of DHO had to be applied. In these two cases larger quantities were required for the reversion of the effect of adrenaline (a total quantity of 250–300  $\mu$ g) but it has to be taken into account, that a part of the substance is excreted. For the complete blocking of the effect of adrenaline, 0,22–0,7 mg/kg of DHO were needed in a test, i. e. 2–6 times as much as used for the reversal of the adrenaline effect. The dose, effecting the adrenaline reversal was never sufficient for the blocking of the sympathetic system (Fig. 1–4).



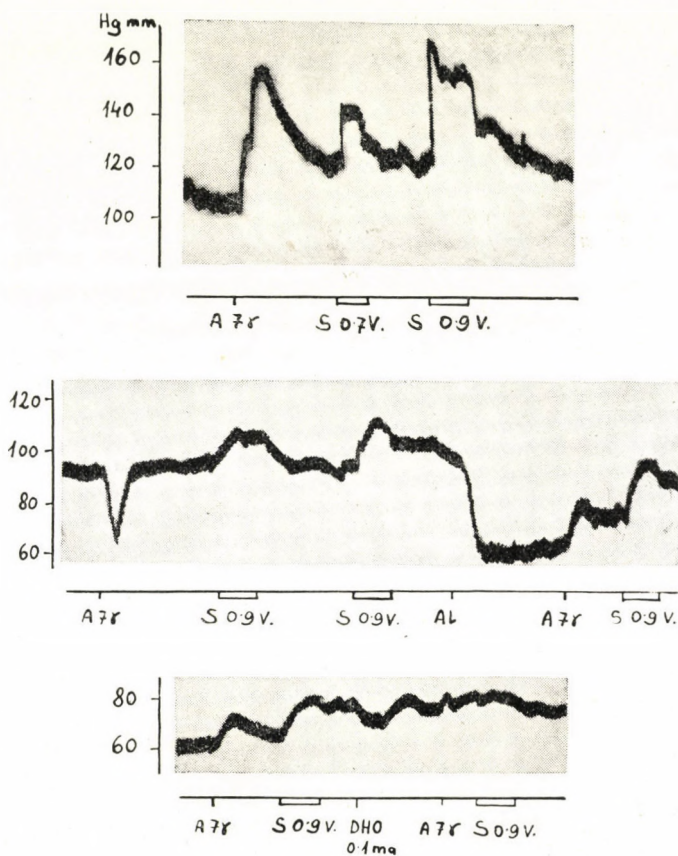


Fig. 1.

Cat. 5,8 kg. Urethan narcosis, 1 g/kg. (Doses per kg.) Explanation of symbols: A: adrenalin, S: splanchnic stimulation, Al: 0,2 mg. Aleudrine DHO: dihydroergocornine. — Curve 1: blood-pressure before DHO. Curve 2: blood-pressure after 0,1 mg DHO. Curve 3: blood-pressure after 0,6 mg DHO.

The experiments carried out with dihydroergotamine, DHE, demonstrate, that the blood-pressure raising effect of adrenaline is reversed by DHE, in approximately identical doses with the DHO, i. e. 0,08—0,1 mg/kg. After Aleudrine, there was again caused a rising of the blood-pressure by adrenaline. In order to block completely the blood-pressure raising effect of adrenaline, a larger dose (0,6—0,8 mg/kg) was needed (Fig. No. 2). This dose blocked also completely the effects of splanchnic nerve stimulation.

In the case of ergotamine, we determined the dose causing the certain reversal of the effect of adrenaline to be 1—1,2 mg/kg. But the stimulation of the sympathicus caused even now a higher blood-pressure. Consequently the dose, effecting the reversal of the blood-pressure raising effect of adrena-



line, is in the case of ergotamine again not sufficient to block the sympathetic. Fig. No. 3., curve 2. After Aleudrine, adrenaline effected in this case also the rising of blood-pressure. Curve No. 3 illustrates, that in case of administering 15 microgm of adrenaline, if its blood-pressure sinking effect has been blocked by Aleudrine, a rise of the blood-pressure, identical with that caused at the start of the experiment by the stimulation of the sympathetic, is effected. If a still larger dose, 2—2,2 mg/kg was administered, the stimulation of the sympathetic, as well as the effect of adrenaline were entirely restrained (Fig. 3, curve 4). A more intensive stimulation of the sympathetic system (2,5 V) will, of course still cause a raising of the blood-pressure.

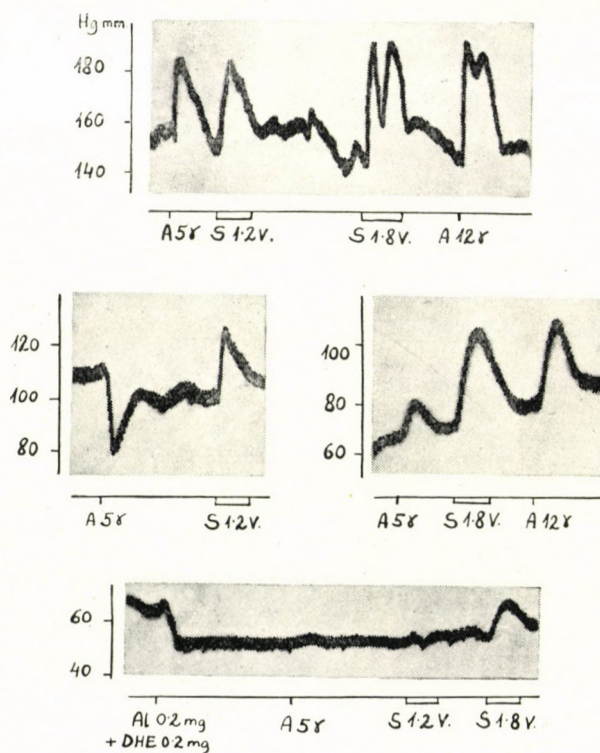


Fig. 2.

Cat. 4 kg. Urethane narcosis 1 g/kg. (Doses per kg.) Explanation of symbols: A: adrenaline, S: splanchnicus stimulation, Al: 0,2 mg Aleudrine. DHE: dihydroergotamine. — Curve 1: blood-pressure before DHE. Curve 2: blood-pressure after 80  $\mu$ g DHE. Curve 2b: blood-pressure after 0,2 mg Aleudrine. Curve 3: blood-pressure after 800  $\mu$ g/kg DHE.

The figures relating to the various tests are summarized in the table (see p. 71), which contains columns: of the dose of adrenaline employed; the intensity of the stimulation of the sympathetic in volts, necessary for the production of a blood-pressure of equal size; the doses of ergot alkaloids necessary for



the reversal of the blood-pressure raising effect of adrenaline, and for the total blocking of it, after the administration of Aleudrine. There are further the doses, required for the restraint of the stimulation of the sympathetic system. It appears from these data, that for the complete blocking of the effects of adrenaline, ergotamine was three times weaker than DHE, and four times weaker than DHO.

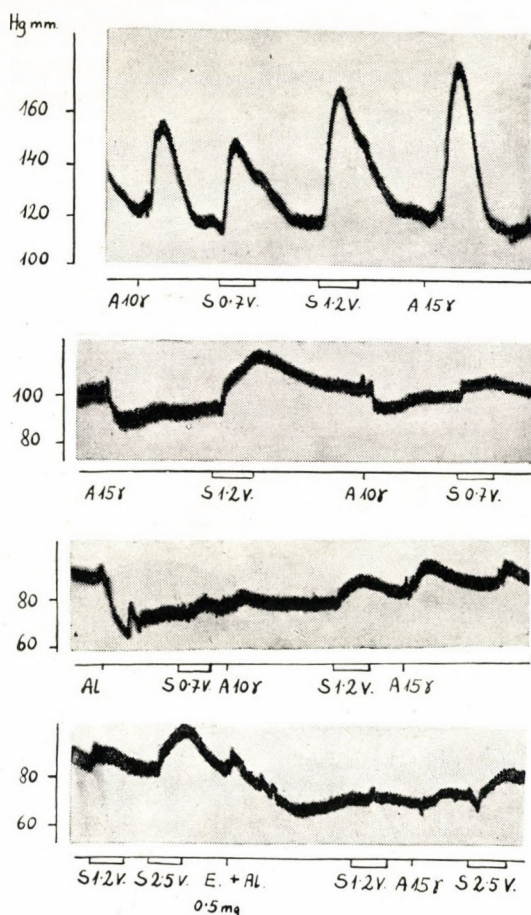


Fig. 3.

Cat. 1,9 kg. Urethane narcosis. 1 g/kg. (Doses per kg.) Explanation of symbols: A: adrenaline, S: splanchnicus stimulation, AL: 0,2 mg Aleudrine. E: ergotamine. — Curve 1: blood-pressure before ergotamine. Curve 2: blood-pressure after 1,2 mg ergotamine. Curve 3: blood-pressure after 1,2 mg ergotamine and Aleudrine. Curve 4: blood-pressure after 1,7 mg ergotamine and Aleudrine.

The fact that small doses of adrenolytica reverse (and apparently inhibit) the effect of adrenaline, whereas they inhibit the blood-pressure rise of the stimulation of the sympathicus only with greater difficulties, was



TABLE

Serial No.	Ergot alkaloid	I.	II.	III.	IV.	V. Adrenalin dose in mg	VI. Nor-adrenalin dose	VII. Splanchnicus excitation in V
1.	DHO	0,05	0,40			0,010		
2.	"	0,06	0,70			0,030		
3.	"	0,10	0,28		0,70	0,012		
4.	"	0,10	0,70			0,007		0,9V
5.	"	0,05	0,70			0,015		
6.	"	0,10	0,70			0,004		
7.	"	0,10	0,75	0,22	0,22	0,040	0,080	1,2V
8.	"	0,10	0,22			0,007		
9.	"	0,10	0,31			0,030		
10.	"	0,08	0,25	0,25		0,010		
11.	"	0,15	0,50	0,50		0,005	0,010	
12.	"	0,05	0,45			0,010	0,020	
13.	"	0,05	0,45			0,006		
14.	"	0,05	0,45			0,018		
15.	"	0,05	0,40	0,40	0,40	0,005	0,010	1,2V
16.	DHE	0,10	0,70	0,70		0,005	0,010	
17.	"	0,13	0,70			0,010		
18.	"	0,08	0,70		0,80	0,005		1,5V
19.	Ergotamin	1,10	2,00		2,00	0,004		2,1V
20.	"	0,75	1,70		1,70	0,010		0,7V
21.	"		2,20		2,20	0,020		1,2V

I. Dose of ergot alkaloid in mg/kg, sufficient to revert the blood-pressure raising effect of the adrenaline dose marked in the column V.

II. Dose of ergot alkaloid, blocking entirely the effect of adrenaline administered after Aleudrine.

III. Dose of ergot alkaloid, by which the effect of the nor-adrenaline dose, marked in column VI is completely blocked.

IV. Dose of ergot alkaloid, by which the effect of the splanchnic stimulation, in the intensity marked in column VII is completely inhibited.

already demonstrated at an earlier date by *Dale* (11), *Rothlin* (4), *Ahlquist* (9), *Nickerson* (6) and others, whereas the investigations of *Holtz* (7), *Euler* (8), *Ahlquist* (9), *Folkow* (10), and *Tainter* (5) are demonstrating, that at the effect of the stimulation of the sympathetic, nor-adrenaline is set free, and the blood-pressure stimulating effect of the nor-adrenaline is more difficult to block, than that of the adrenaline. According to these authors, the blood-pressure raising effect of the nor-adrenaline cannot be reversed at all by the action of adrenergic-blocking agents. This is also the reason why, after the administration of sympathetic blocking agents, when the effect of the adrenaline has already been reversed, the stimulation of the splanchnicus still causes a rise of blood-pressure, which can only be inhibited by a larger dose of blocking substances. In the three tests, in which we have also compared the effect of the nor-adrenaline with the action of adrenaline, respectively of the stimulation of the splanchnicus, we obtained the result, that at the beginning of the test, when the effect of the adrenaline has been entirely blocked, the



blood-pressure raising effect of the nor-adrenaline, identical with that of the adrenaline, was also completely inhibited (Fig. No. 4).

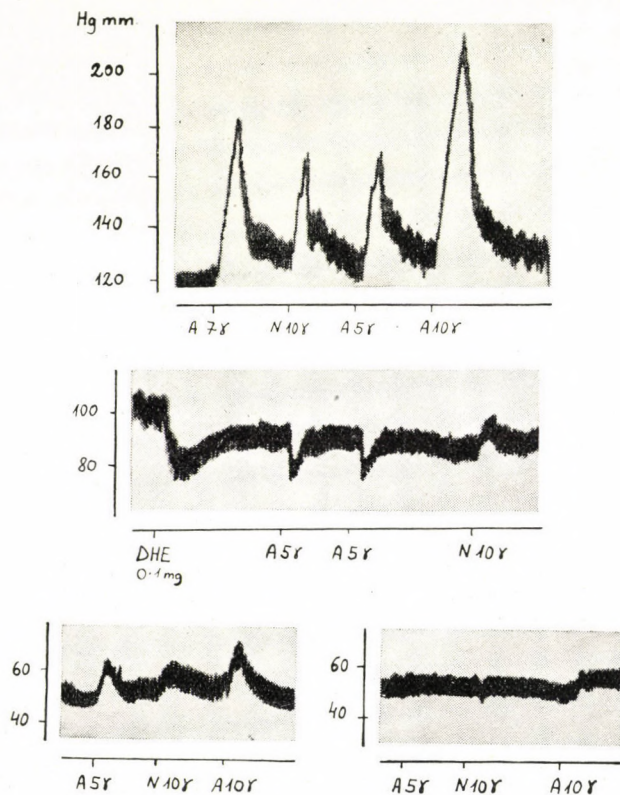


Fig. 4.

Cat, 2.5 kg. Urethane narcosis. 1 g/kg. (Doses per kg.) Explanation of symbols: A: adrenaline, N: dl nor-adrenaline.—Curve 1: blood-pressure before DHE. Curve 2: blood-pressure after 0.1 mg DHE. Curve 3: blood-pressure after 0.1 mg 0.7 mg DHE and 0.2 mg Aleudrine.

We examined further the action of sympatol (p-oxyphenyletanolmethylamine) the blood-pressure raising effect of which cannot be reversed, as it is known, and which, according to our supposition, could only stimulate the pressoreceptors. Four of our tests are testifying that the blood-pressure raising effect of 0.1–0.6 mg/kg of sympatol has been restrained in 90% by 0.1 mg/kg of DHO, but much larger doses are needed for the complete inhibition. (In two tests more than 0.7 mg/kg.) Similarly to the splanchnic nerve stimulation Aleudrine also failed to influence the blood-pressure raising effect of sympatol, administered subsequently. Therefore, according to our opinion, the blood-vessel dilatating receptors do not play any part either in the stimula-



tion of the sympathetic system, or in the action of sympatol. It is only adrenaline, which is reacting with the blood-vessel dilatating receptors also.

There has arisen the possibility, that Aleudrine is abolishing the inhibitory effect of ergot alkaloids and reversing the effect of adrenaline hereby. This is contradicted by the observations of *Coret* and *Van Dyke*, according to whose observations, in case Dibenamine is used as blocking agent, which has an effect lasting for several days, the blood-pressure lowering effect of adrenaline returns gradually with the proceeding elimination of Aleudrine from the organism. We have also demonstrated that adrenaline does not lower the blood-pressure, even when Aleudrine has been administered previously, and the adrenaline-blocking agent followingly. We have also pointed out, that the rise of the blood-pressure, presenting itself after the joint administration of a sympathetic-blocking agent and Aleudrine, is of sympathicomimetic origin, because it may be inhibited either by the application of further quantities of ergot alkaloids, or by yohimbine. The phenomenon, that Aleudrine stimulates the blood-pressure raising effect of adrenaline, is caused by the binding of the sympathetic vaso-dilatators by Aleudrine.

If, instead of Aleudrine, some other, not specifically sympathetic vaso-dilatator has been used (e. g. papaverine), the reversion of the blood-pressure lowering did not occur. In this test, after the administration of DHE, the blood-pressure sinking action of 5 microgm/kg adrenaline could not be reversed or blocked by 5 mg/kg of papaverine, which has a blood-pressure sinking effect equal to approximately 0,2 mg/kg of Aleudrine.

These investigations confirm the theory, according to which there are two kinds of sympathetic receptors in the blood-vessel system: stimulating and inhibiting, i. e. pressors and depressors. (*Ahlquist, Dale.*)

The vasopressor and vasodilatator action of adrenaline can be explained by supposing, that the adrenaline molecules possess a comparatively much greater affinity towards the presso-receptors, and that, under normal conditions, they are not at all combining with dilatator elements, unless the greater part of the receptors is bound by inhibitory molecules.

Among the dioxy-phenyl-alkyl-amine derivatives, adrenaline possesses a capacity of lowering the blood-pressure, following the sympathetic blockade: this is based on the stimulation of the specific vaso-dilatator receptors. It is not influenced either by atropine, or by sympathetic blocking-drugs, while it can be competitively antagonized by dioxy phenyl-alkylamine derivatives, which are primarily effecting the stimulation of the sympathetic vaso-dilatators. (Aleudrine, Butanephrine.) In consequence of this, adrenaline continues to effect a certain rise of the blood-pressure, in case of an incomplete sympathetic blockade. In contrast to the action of adrenaline, dioxy- and monoxy-phenyl-alkylamine derivatives, possessing chiefly or exclusively only sympathetic stimulating effects, and no inhibitory



influence (sympatol, nor-adrenaline) can only be restrained by small doses of ergot alkaloids, in a degree, that a part of their original effect will be noticeable after the paralysing action too. According to our supposition, this may be the chief cause, why hitherto such considerable differences were found in relation to the blocking-up, between the effects of the adrenaline and the stimulation of the sympathicus. In fact, adrenaline blockade was considered complete up till now\* if its blood-pressure raising effect became reversed.

From the fact demonstrated by us, consisting in the supposition that in order to inhibit the irritating effect of adrenaline in blood-pressure tests, considerably larger amounts of sympathetic-blocking agents were necessary, than the hitherto employed, it follows as a matter of fact, that in cases, where only the excitatory action (positive chronotropic action) of adrenaline was tested, its inhibition by means of sympathetic-blocking drugs met with much more difficulty.

#### SUMMARY

I. The adrenolytic and sympathicolytic effects of dihydro-ergocornine, dihydro-ergotamine and ergotamine (Sandoz) were examined in cat blood-pressure tests. 1. First similar blood-pressure rises were produced, by a given quantity of adrenaline and stimulation of the splanchnicus; 2. By administration of 0,1 mg/kg of hydrated ergot alkaloids, or 1 mg/kg of natural ergotamine, the blood-pressure raising effect of adrenaline was inverted into blood-pressure lowering, while the stimulation of the sympathicus continued to cause a rise of the blood-pressure. (This being due to the fact, that only the vasopressor effects of the adrenaline are inhibited by the ergot alkaloids, whereas the vasodilator effects remain uninfluenced by them.

II. If the blood-pressure lowering effect, occurring after the administration of ergot alkaloids is blocked by isopropyl-nor-adrenaline (Aleudrine), there will be effected a rise of the blood-pressure by adrenaline, similar to that, caused by the stimulation of the splanchnic nerve. This means, that moderate doses of ergot-alkaloids do not bind the sympathetic pressoreceptors completely.

III. In order to block completely the blood-pressure raising effects of adrenaline — which are the only ones active under the given experimental conditions — much larger quantities of ergot alkaloids are needed. I. e. 0,3 mg—0,6 mg/kg of dihydroergocornine 0,6—0,8 mg/kg of dihydroergotamine, and 2—2,2 mg/kg of ergotamine, are the doses necessary for the blocking of the blood-pressure raising effect of adrenaline. At such a

\* It must be taken into consideration, that the stimulating effect of the adrenaline on cardiac-action is considerably stronger, than that of the nor-adrenaline liberated in the course of sympathetic stimulation. Consequently, the blood-pressure rise, produced by adrenaline, following the administration of a sympathetic blocking drug, and of Aleudrine, might be also explained by the positive cardiac-action of adrenaline, which may scarcely be influenced by sympathetic blocking drugs. This however is not probable, because in this case it would be necessary that the small dose of adrenaline should, after a large dose of Aleudrine which possesses a very strong positive cardiac-effect, continue to increase cardiac action to such a degree, that this should manifest itself in a rise of blood pressure also. It is rather to be accepted, that positive cardiac action is playing a leading part in the case of sympatol, the latter being rather a cardiac-action stimulating drug, and no direct blood-pressure raising agent. Accordingly, it is due to the strong positive cardiac-action of the sympatol, that the rise of the blood-pressure cannot be completely inhibited.



high degree of blockade, even the stimulation of the splanchnic nerve will not effect any rise of the blood-pressure.

IV. At the effect of such large doses, the blood-pressure raising effect of the phenyl-alkylamine derivatives such as sympatol, nor-adrenaline is also inhibited: they are not able to react as vaso-dilatators against the effect of adrenaline.

V. The vasodilatator effect of adrenaline after sympathetic blocking drugs will cease under the effect of isopropyl-nor-adrenaline, because the latter competitively antagonises the adrenaline in the process of binding to the vasodilatator receptors. Although in such cases blood pressure is low (40—60 mm of mercury column), nevertheless this is not the reason why the vasodilatator effect of adrenaline ceases, as, if the low blood-pressure is produced by means of papaverine, adrenaline will cause a further lowering of the blood-pressure.

*Acknowledgments:* The authors are grateful to the Sandoz A. G. Basle for ergot alkaloids, to Dr. A. Kovach for de nor-adrenaline, and to Mr. G. Pataky for isopropyl nor-adrenaline.

#### LITERATURE

1. Lands A. M., J. Pharmacology 96/II. 279. 1949.
2. Nickerson M. and Goodmann L. S., Fed. Proc. 7., 397. 1948.
3. Coret I. A. and Van Dyke H. B., J. Pharmacology 95., 415. 1949.
4. Rothlin E., Schweiz. Med. Wschrft. 1254. 1946.  
Bull. Schweiz. Akad. Med. Wissensch. 2., 249. 1947.
5. Tainter M. L., Arch. int. Pharmacodyn. 41., 365. 1931.
6. Nickerson M., J. Pharmacology 95/II. 1949.
7. Holtz P. und Schüman, Naturwiss. 159. 1948.
8. v. Euler U. S., Acta Physiol. Skand. 16., 163. 1948.
9. Ahlquist R. P., Am. J. Physiol. 153., 583. 1948.
10. Folkow B., Frost J., Uvmas B. Acta Physiol. Skand. 15., 412. 1948.
11. Dale H. H., J. Physiology 34., 663. 1906.

Л. Дьермек, Л. Станик, Е. Ланг:

#### АДРЕНОЛИТИЧЕСКОЕ И СИМПАТОЛИТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ АЛКАЛОИДОВ СПОРЫНИ

(Фармакологический Институт, Будапешт.)

#### Резюме:

1. Аденолитическое и симпатолитическое действие ди-гидроэргокорнина, ди-гидро-эрготамина и эрготамина (Сандоз), было исследовано нами посредством опытов над давлением крови кошек. Во первых, тождественное повышение давления крови было достигнуто внутри-жилной подачей адреналина и спланхническим возбуждением; затем, применяя 0,1 мг/кг. гидротизированных алкалоидов спорыни, или 1 мг/кг. натурального эрготамина, повышающее давление крови действие адреналина становится, наоборот, понижающим, тогда как симпатическое возбуждение продолжает обуславливать повышение давления крови (это явление объясняется тем обстоятельством, что только сосудо-суживающее действие адреналина задерживается алкалоидами спорыни, тогда как сосудо-расширяющее действие не подлежит их влиянию).

2. Если понижающее давление крови действие адреналина, появляющееся после применения алкалоидов спорыни, задержано посредством изопропил-нор-адреналина (Алеудрин), то адреналин вызовет повышение давления крови, подобно вызванному спланхническим воз-



буждением. Это означает, что умеренные дозы алкалоидов спорыньи не вьжут вполне симпатических прессорных рецепторов.

3. Для того чтобы, в условиях опыта, описанных выше, — когда только его повышающее давление крови действие может проявить себя — адреналин был совершенно парализован, нужны большие количества алкалоидов спорыньи.

Дозы, способные парализовать повышающее давление крови действие 1 до 15 мг/кг. адреналина совершенно, следующие: дигидро-эргокорнин 0,3 до 0,5 мг/кг., ди-гидро-эрготамин 0,6 до 0,8 мг/кг., эрготамин 2 до 2,2 мг/кг.

В случае столь высокой степени затормажения, также и спланхическое возбуждение не вызывает повышения давления крови.

4. При применении этих более крупных доз, повышающее давление крови действие дериватов фениль-алькиль-аминa (симпатол, нор-адреналин) будет парализовано и неспособно иметь сосудодилататорного влияния; т. к. — эти дериваты противодействуют адреналину.

5. Сосудодилататорное действие адреналина прекратится, после поражения „sympathicus“-а под влиянием изопропил-нор-адреналина, т. как последний противодействует competitively адреналину в процессе связывания сосудодилататорных воспринимателей (рецепторов). Хотя в таких случаях давление крови низко (40 до 60 мм ртутного столбца) тем не менее, не в том причина прекращения сосудодилататорного действия адреналина, т. как, в случаях, когда низкое давление крови вызвано посредством папаверина, адреналин, все-таки, вызывает дальнейшее понижение давления крови.



## THE PREGNANCY TEST WITH MALE FROGS

By:

T. Kertész and L. Ács

(O. T. I. Uzsoki Hospital. Budapest.)

*Preliminary report*

(Received: 1. 5. 1950.)

In diagnostic tests for pregnancy, we use the common Hungarian frog, *Rana esculenta* introduced with us by *Bach et al.*, and obtain excellent results.

Two difficulties were encountered:

1. The toxicity of the urine often killed the frog. We do not share the opinion of *Landgrebe* and *Hobson* (1) who believe that this is caused by propagating bacteria. We find that recently voided urine can be very toxic and may kill the frog.

2. The lower sensitivity of winter frogs sometimes causes negative results, due to the low level of hormone in the urine.

We made investigations in view of eliminating these difficulties by enriching the hormone content of the urine by means of a method applied to concentrate colloidal solutions. (2) The essential point of this method is the frothing of colloidal solutions, which results in an increase of colloids in the froth.

In the beginning we placed 100 ml. of urine, after adjusting the acidity to pH 5—6, in a glass tube used for transfusions, and, creating an air current by suction through the column of urine for 10—15 minutes, we obtained a firm froth. After removing the fluid portion, the froth was placed in 2—3 ml. saline and used for inoculations. Later on we simplified this method by using a separating funnel of about 300 ml. capacity, and shaking thoroughly for 5 minutes. In this way we obtained a firm froth which was collected in a few ml. saline and used for inoculations.

The results were the following:

1. The froth of positive urine always gives a positive reaction after 30—40 minutes, sometimes more quicker, even in 15 minutes and the reaction can be so intense, that the content of the pipette used for the catheterisation of the frogs shows a turbidity visible to the naked eye, caused by the spermatozoa.

2. The froth of diluted (1 : 20) positive urine gives positive results, but the exhausted part gives no positive reaction: the hormones are concentrated in the froth.



3. Frogs inoculated with froth show no signs of distemper and do not die: toxic ingredients do not pass into the froth.

In case the reaction is negative, after a further 30 minutes we repeat the inoculation with the froth, using the same frog and we continue the observation for a further 90 minutes, examining the cloaca content at intervals of 30 minutes.

The shorter time taken for observation of positive cases enables a speedier diagnosis of possible ectopic gestation and we succeeded in detecting early pregnancies, while the tests carried out with untreated urine gave negative results.

Last, but not least, the advantage in economy is obvious.

#### LITERATURE

1. Landgrebe F. W. and Hobson. B. M. Brit. M d. J. 1949. II. p. 17.
2. Oswald Wo. und Siehr A. Kolloidzeitschrift. 1936. 76. p. 33.

Сообщили: Т. Кертес и Л. Ач.

#### ПРОБА НА БЕРЕМЕННОСТЬ ПОСРЕДСТВОМ ПРИВИВКИ САМЦУ — ЛЯГУШКЕ (О. Т. И. Ужский Госпиталь, Будапешт.)

##### Резюме:

Гормоны, употребляемые для констатирования беременности, посредством прививки самцам лягушкам оказались капиллярно-активными. Если взбалтывать мочу беременной с воздухом, гормоны проходят в пенистую часть: 100 куб. сант. мочи беременной (Р. л. между 5 и 6) сильно взбалтываются в течение 5 минут в сепарирующей воронке (300 куб. сант.) после чего, спустив водянистую часть, собирают пену в 2 до 3 куб. сант. физиологического раствора соли и этой пенистой частью мочи, производится прививка.

Мы получили следующие результаты:

1. Лягушка-самец, которому привили пену из мочи беременной дает положительную реакцию в промежуток времени от 15 до 60 минут. Действие иногда так заметно, что можно наблюдать простым глазом мутность клоачного содержания, вызванную присутствием спермиума: гормоны перешли из мочи в ее пенистую часть.

2. Пена мочи беременной растворенная в пропорции 1:20 дает положительную реакцию, тогда как раствор мочи уже не дает позитивных результатов: гормоны сосредоточены в пене.

3. Лягушки, которым привита пена не гибнут: ядовитые вещества не проходят в пену.

Следует отметить короткое время, нужное для выяснения положительных случаев (например при *graviditas extra-uterina*), далее обстоятельство, что пробы могут быть произведены с единичной лягушкой, что можно применить крупную начальную дозу и что пробы не требуют повторения, вследствие гибели животного.



## MORPHIN-PROSTIGMIN SYNERGISMUS\*

Von

E. Komlós, J. Pórszász und J. Knoll

(Pharmakologisches Institut. Univ. Budapest.)

(Eingegangen: 18. II. 1950)

*Slaughter, Gross und Munsell* (1,2) machten im Jahre 1940 die Wahrnehmung, dass die Toxizität und die Wirkungen des Morphins auf Darm, Blutdruck und Schmerzempfindung durch Physostigmin und Prostigmin gesteigert werden können. Ihrer Ansicht nach tritt die Potenzierung deswegen ein, weil das Morphin durch einen cholinergischen Mechanismus wirkt, Physostigmin und Prostigmin die Wirkung des Azetylcholins sensibilisieren und so die Wirkungen des Morphins verstärken. Diese Annahme unterstützen sie damit, dass Atropin diesen Morphin-Prostigmin Synergismus aufhebt. *Wramner* und *Flodmark* (3, 4) bestätigten diese Beobachtung in Bezug auf die *Straub-Hermannsche* Mausechwanz-Reaktion und die schmerzstillende Wirkung bei der Ratte. Neuestens stellten *Christensen* und *Gross* (5) diesen Synergismus auch beim Menschen fest.

Trotz alledem schien es interessant, den Synergismus zwischen diesen beiden Mitteln eingehender zu studieren und ihren quantitativen Charakter und Einflussmöglichkeiten festzustellen, da diese einen Einblick in den Wirkungsmechanismus der einander verstärkenden Mittel gewähren können.

In unseren Versuchen waren wir vorläufig bemüht auf die folgenden Fragen Antwort zu erhalten:

1. Durch welchen quantitativen Zusammenhang kann der Morphin-Prostigmin Synergismus in Bezug auf die Toxizität ausgedrückt werden?
2. Wie ist dieser durch Atropin zu beeinflussen?
3. Welchen quantitativen Zusammenhang repräsentiert der Morphin-Prostigmin Synergismus bei der Schmerzstillung?
4. Lässt sich die Wirkung, die das Morphin auf die Atmung übt, durch Prostigmin verstärken?

### 1. Der Morphin-Prostigmin Synergismus in Bezug auf die Toxizität

Für die Versuche wurden gut entwickelte, männliche, weisse Mäuse verwendet. Jede Dosis wurde an 5—5 Tiere s. c. nach dem bezüglichen Körper-

\* Diese Arbeit wurde mit Unterstützung der Ungarischen Akademie der Wissenschaften ausgeführt.



gewicht berechnet verabreicht. Den innerhalb sechs Stunden eintretenden Tod der Tiere betrachteten wir als die primäre Wirkung des angewandten Pharmakons, da das nach dieser Periode eintretende Verscheiden der Tiere auf sekundäre Gründe, sowie Abkühlung, Erschöpfung, u. s. w. zurückgeführt werden kann. Dass wir diesen Zeitpunkt richtig gewählt haben, beweist der Umstand, dass von den am Leben gebliebenen Tieren am nächsten Tag bloss 5–10% zu Grunde gingen. Die  $DL_{50}$  wurde aus den Versuchsergebnissen, mittels der *Behrens-Kärberschen* Formel berechnet.

Fünf bis sieben Minuten nach den tödlichen Morphindosen wurde die Schwanzreaktion beobachtet, gleichzeitig wurden die Tiere äusserts unruhig und liefen ziellos hin und her. Mit der Verstärkung der Schwanzreaktion werden die Hinterbeine immer schwächer, bis das Tier sie förmlich nach sich schleppt. Von Zeit zu Zeit bleibt die Maus in einer Haltung, die einem zum Stosse sich vorbereitenden Stiere ähnelt, stehen. Die Atmung wird 30 Minuten nach der Injektion schwer, zeitweise tritt Apnoe auf, währenddessen die Tiere entweder in Krampf fallen, oder in noch gesteigerten Masse auf und ab rennen. Die Krämpfe melden sich anfänglich in 15–20 Minuten dauernden Intervallen, später in 4–8 Minuten, der Tod tritt nach, oder während des 5–6-ten Krampfanfalls ein, zumeist 3–4 Stunden nach der Injektion. Nach der Atmungslähmung, schlägt das Herz noch.

Die Vergiftungssymptome des Prostigmins zeigen sich bereits in 3–4 Minuten: durch starke Speichelabsonderung, Muskelzittern, Myosis, Harn- und Stuhlentleerung; nach kurzer Zeit treten sehr starke Krämpfe auf, wobei die Atmung aussetzt. Auch während den Abschnitten zwischen den Krämpfen ist die Atmung sehr oberflächlich, zuweilen gibt es eine 40–50 Sekunden dauernde Apnoe. Die Krämpfe werden immer häufiger und der Tod tritt gewöhnlich in 30 Minuten oder einer Stunde nach der Injektion, durch Atemlähmung ein. Das Herz schlägt noch nach der Atemlähmung.

Bei der gemeinschaftlichen Verabreichung beider Mitteln, äussern sich die Symptome beider Pharmaka, wobei immer die Wirkungen des im Übergewicht sich befindlichen Pharmakons dominieren.

Bei der Untersuchung des Synergismus wurde die folgende Methode befolgt: es wurde die  $DL_{50}$  des Morphinum hydrochloricum und des Prostigminum bromicum (Hoffmann la Roche) bestimmt, welche 372, bzw. 0,3 mg/kg betragen. Diese Werte wurden in der Weise auf die X-, bzw. Y Achse eines Koordinatensystems aufgetragen, dass in der Darstellung die beiden Werte von der Origo in gleichen Abstand standen. Die beiden Punkte wurden miteinander verbunden, und die entstandene Gerade in 5 gleiche Teile geteilt; an den zwei äussersten Fünfteln wurden die Grenzen des äussersten und mittleren Drittels besonders bezeichnet. Die so gewonnenen Punkte wurden mit der Origo verbunden, und somit 6 Radius erhalten, die die Verhältniszahlen der Morphin-Prostigmin Mischungen bestimmten. Die  $DL_{50}$  von



jeder Mischung wurde festgestellt. Im Durchschnitt wurden zu jedem Radius 45—50 Tiere verwendet. Die so gewonnene Kurve (Abb. 1, „S“) bedeutet die Isobole der Toxizität der Morphin-Prostigmin Mischungen. Ihre Approximation wurde durch die Formel  $y = b x^a$ , durchgeführt, in welcher  $y$  die Morphin- und  $x$  die Prostigmin Dosen bedeuten. In der Approximation, nach die Theorie der kleinsten Quadrate erhielten wir:

$$a = \frac{N \sum' \log x \log y - \sum' \log x \sum' \log y}{N \sum' (\log x)^2 - (\sum' \log x)^2}$$

$$\text{und } \log b = \frac{\sum' \log y \sum' (\log x)^2 - \sum' \log x \sum' \log x \sum' \log y}{N \sum' (\log x)^2 - (\sum' \log x)^2}$$

Da in ihrer Wirkung ( $DL_{50}$ ) und in der Darstellung, im gegebenem Falle 372 mg Morphin 0,3 mg. Prostigmin entsprechen, wurde bei der Berechnung der Gleichung von der Isobole dieses Verhältniss in Betracht genommen. Die Endpunkte der Isobole schneiden die Achse  $x$ , bzw.  $y$ , folglich beträgt der Wert der zu diesen Punkten gehörenden andern Koordinate 0, dessen Logarithmus undefinierbar ist. Wir gaben daher in unserem Verfahren, zu jedem der zu approximierenden Wertpaare 2,0, wodurch die Kurve im Koordinatensystem mit zwei Einheiten verschoben wurde. Auf dieser Weise wurde der folgende Ausdruck erhalten:  $y - 2 = 1809 \cdot 54 (x - 2)^{-0.9249374}$ , auf Grund dessen die, den oben bestimmten Punkten approximierte Parabel dargestellt wurde. (Abb. 1, Kurve „S“.)

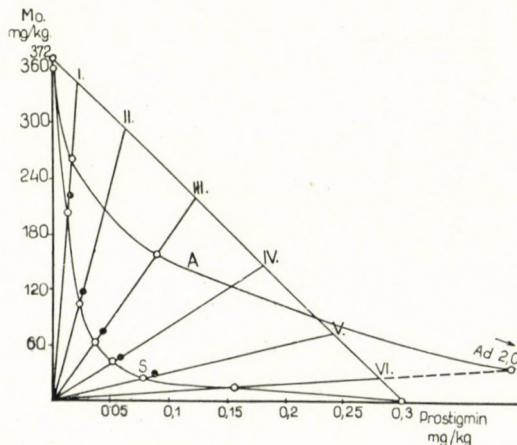


Abb. 1.

Isobole des Toxizitäts-Synergismus von Morphin-Prostigmin (S) und der Einfluss von Atropin (A) darauf.

Aus der Gestaltung der Kurve kann über den Charakter des Synergismus folgendes gefolgert werden: der Synergismus ist zweifellos kein addition-



neller Vorgang, sondern scheint weit stärker zu sein, da im Falle einer Addition, die Isobole mit der, die  $DL_{50}$  des Morphin- und Prostigmin verbindenden Geraden zusammenfallen würde. Die Isobole ist annähernd symmetrisch.

TABELLE 1.

	Dosis mg/kg		Dosis in Prozenten der vollen Dosis ausgedrückt		
	Morphin	Prostigmin	Morphin	Prostigmin	Zusammen
Y Achse					
Gefunden .....	372,00	—	100,00	—	100,00
I. Radius					
Gefunden .....	222,89	0,013	59,9	4,26	64,16
Berechnet .....	203,11	0,0117	54,6	3,9	58,5
II. Radius					
Gefunden .....	119,04	0,024	32,0	8,0	40,00
Berechnet .....	103,66	0,0209	27,58	6,97	34,55
III. Radius					
Gefunden .....	75,85	0,041	20,39	13,66	34,05
Berechnet .....	62,87	0,0338	16,9	11,27	28,12
IV. Radius					
Gefunden .....	47,11	0,055	12,66	18,33	30,99
Berechnet .....	42,16	0,051	11,33	17,00	28,33
V. Radius					
Gefunden .....	26,78	0,086	7,2	28,66	35,86
Berechnet .....	25,79	0,0832	6,93	27,73	34,66
VI. Radius					
Gefunden .....	14,23	0,153	3,82	51,0	54,82
Berechnet .....	14,26	0,161	3,83	53,66	57,43
X Achse					
Gefunden .....	—	0,3	—	100,00	100,00

Zur Bezeichnung von Mass und Charakter des Synergismus wurde bisher der von *Loewe* und *Muischneck* (6) eingeführte Begriff „V“ benutzt; da aber dessen Berechnung ziemlich langwierig ist, andernteils wurde durch ihn keine direkte, gut definierbare Aufklärung über die quantitativen Verhältnisse erlangt, wurde für diesen Zweck ein neuer Begriff, der „Synergismus-Index“ eingeführt. ( $S_i$ .) Jene auf die  $x$  und  $y$  Achsen aufgetragene Dosen, die an sich, für die Erreichung der durch die Isobole charakterisierten Wirkung genügen, nehmen wir als 100% an. Der Index des Synergismus ist der Ausdruck der Koordinaten des Kurvenmaximums im Prozenten des zu den vollen (100%) Wirkung genügende Dosen. Die Werte werden auf der bei den Koordinatenpaaren üblichen Weise aufgeschrieben z. B.:  $S_i = (30\%, 40\%)$  wo die erste Zahl das Prozent der vollen Dosis die auf die  $x$  Achse, die zweite Zahl, die auf die  $y$  Achse aufgetragene Pharmakons, bedeutet.

Der Wert des  $S_i$  gibt schon auf den ersten Blick die folgende Aufklärungen: 1. Über das Mass des Synergismus. Wenn nämlich die Summe der beiden Prozenten kleiner als 100 ist, hat der Synergismus einen in diesem Verhältnis



potenzierten Charakter. Ist die Summe gleich 100, wird der Synergismus als additional betrachtet, ist sie grösser als 100, wird der Synergismus relativ, schliesslich, wenn eine oder beide der Koordinaten mehr als 100 ist, handelt es sich um einen wahrhaften Antagonismus. 2. Da sich der Wert des  $S_i$  aus den Koordinaten des Kurvenmaximums ergibt, zeigt er sofort die maximale Kombination vom Standpunkte der Wirkung. 3. Der  $S_i$  zeigt auch den Ablauf der Kurve, und klärt somit das Verhältniss der an den Synergismus teilnehmenden Mittel auf. Wenn nämlich im Ausdrucke  $x = y$  ist, ist die Kurve symmetrisch, und die beiden Mittel sind im Kombinationsmaximum im gleichen Masse beteiligt. Ist  $x > y$ , wird die Kurve asymmetrisch, das Maximum befindet sich näher zur  $x$  Achse, folglich ist im Kombinationsmaximum das auf der  $x$  Achse aufgetragene Arzneimittel, in höherem Prozentsatze beteiligt. Im Falle  $y > x$  ist, liegt der Fall umgekehrt. 4. Im Falle eines variierten Synergismus hat der  $S_i$  bloss einen einzigen Wert, und zwar bezeichnet er den Wert des Mittels, das die in der Kombination untersuchte Wirkung auch allein zu Stande bringen kann, dessen Achse folglich die Isobole tatsächlich schneidet.

Zur Bestimmung des  $S_i$  ist die Berechnung der maximalen Krümmung erforderlich. Die allgemeine Formel der Krümmung aus der Gleichung der angenäherten Kurve ergibt:

$$z = \frac{y''}{(1 + y'^2)^{3/2}}.$$

Differenziert:

$$z' = z \left[ \frac{y''' (1 + y'^2)}{y''} - 3 y' y'' \right],$$

welche gleich 0 gemacht das Kurvenmaximum ergibt. (Hier ist  $z = 0$ , nicht anwendbar, weil es das Minimum ergibt.) Wir substituieren in die Gleichung auf Grund der entsprechenden Kurve. Es wurde mit der  $y = bx^a$  Parabel angenähert, damit substituiert, wird

$$x = \sqrt[2a-2]{\frac{a-2}{a^2 b^2 (2a-1)}}$$

In dem vorliegenden Falle sind, unter Berücksichtigung der Verschiebung der Kurve:  $x = 0,03879$  mg,  $y = 52,303$  mg. Das bedeutet 12,93, bzw. 14,06% der vollen Dosen. So ergibt sich  $S_i$  in unserem Falle folglich:  $S_i = (12,93\%, 14,06\%)$ .

Der Index macht daher auf den ersten Blick den stark potenzierten Charakter der Synergismus und dessen, innerhalb der Versuchsfehler annähernd symmetrisches Wesen ersichtlich.



## 2. Wirkung von grossen Dosen von Atropin auf die Morphin-Prostigmin Toxizität

Bei diesen Untersuchungen wurde auf folgender Weise verfahren: 45 Minuten vor der Dosierung des Mittels, bzw. der Mischung gaben wir 320 mg/kg Atropinum sulf. s. c. und dann bestimmen wir die  $DL_{50}$  des Morphins und des Prostigmis einzeln und danach die  $DL_{50}$  ihrer verschiedenen Mischungen. (Abb. 1, Isobole „A“, und Tabelle 2.)

TABELLE 2.

	$DL_{50}$ Werte									
	vor 320 mg/kg atropin					nach 320 mg/kg atropin				
	mg/kg		in %			mg/kg		in %		
	Morph.	Prost.	Morph.	Prost.	Zusam.	Morph.	Prost.	Morph.	Prost.	Zusam.
Y Achse .....	372,00	—	100,00	—	100,00	362,00	—	97,2	—	97,2
I. Radius .....	222,89	0,013	59,9	4,26	64,16	262,5	0,0151	70,5	5,0	75,5
III. Radius ...	75,85	0,041	20,39	13,66	34,05	160,18	0,086	43,0	28,6	71,6
VI. Radius ...	14,23	0,153	3,82	51,00	54,82	36,58	0,413	9,8	138,0	147,8
X Achse .....	—	0,3	—	100,00	100,00	—	2,0	—	666,6	666,6

Es wurde festgestellt, dass 320 mg/kg Atropin die Toxizität des Morphins nicht beeinflusste, dagegen die lethale Dosis des Prostigmis von 0,3 mg/kg auf 2,0 mg/kg steigerte, — also nahezu auf das siebenfache. Das Atropin veränderte die Morphin-Prostigmin Kombination in dem Sinne, dass, der Ablauf der Kurve im Falle einer relativ grossen Dosis Morphins eine Schwächung des potenzierten Synergismus zeigt, und dass dort, wo das Prostigmin ins Übergewicht gerät, der Synergismus in eine Variation übergeht, die sogar schwächer als die Addition ist. Die Vergiftungssymptome sind identisch mit den beim ursprünglichen Synergismus beobachteten Erscheinungen. Es ist bemerkenswert, dass das Atropin die Wirkung selbst einer äussers geringen Quantität des Prostigmis nicht vollkommen vernichten konnte, da wir in diesem Falle eine, zur  $x$  Achse parallele Gerade bekommen hätten. Dies ist aber — wie ersichtlich — nicht der Fall gewesen, vielmehr ist der Synergismus im Wesentlichen erhalten geblieben.

Mit der Rolle des Atropins im Synergismus werden wir uns in einer folgenden Abhandlung eingehend beschäftigen.

## 3. Die quantitative Untersuchung des Morphin-Prostigmin Synergismus bei der Schmerzstillung

Die Messungen wurden an 1500 entwickelten weissen Mäusen von Okt. bis Dez. 1949 unternommen. Zur Bestimmung der schmerzstillender



Wirkung wurde die von *Pórszdsz* und *Herr* ausgearbeitete, neue Kontakt-Wärmemethodik angewendet (7). Ein ungefähr 5 l, fassender Blechzylinder wurde mit Wasser vollgefüllt, und ständig auf einer Temperatur von 52 C° gehalten; auf dessen obere, ganz glatte Platte wurde durch die Öffnung einer Glassglocke eine Maus gesetzt. Als die Maus die Wärme schmerzlich zu empfinden anfangt, leckte sie mit einer charakteristischen Bewegung die eine, oder andere Sohle. Der Zeitraum, zwischen der auf die Blechplatte-Setzung der Maus und der Reaktion des Sohlenleckens, wurde mit einem Stopper gemessen. Das ist die Reaktionszeit, die auf die Wirkung des schmerzstillenden Mittels, der Dosis entsprechend, zunimmt. Diese Zeitzunahme, in Prozenten der normalen Reaktionszeit ausgedrückt, wird als das Mass der Schmerzstillung angenommen. Die Auswertung der oben erwähnten Verfasser haben wir deshalb nicht angenommen — die eine 150 prozentige Verlängerung als maximal betrachten — weil es unter den potenzierten Werten in grosser Zahl noch höhere gab.

Diese Methodik wurde deshalb gewählt, weil mit ihrer Hilfe in kurzer Zeit, zahlreiche Messungen, ohne Beschädigung der Tiere sich durchführen liessen. Die quantitative Bestimmung der Schmerzstillung ist bei der überaus grossen individuellen Deviation der Tiere, bloss durch zahlreiche, und somit statistisch verwertbare Versuchsserien erreichbar. Im Vergleich mit der Masse der individuellen Deviationen, ergeben sich die Fehler, die durch die Dosierung der Mitteln pro Maus (nicht nach Körpergewicht) entstehen, als vernachlässigbar. Unser Vorgehen war wie folgt: es wurde das durchschnittliche Gewicht der Mäuse gewogen (24 g), danach das Arzneimittel subkutan eingeführt, und nach 35 Minuten die durch das schmerzstillende Mittel verursachte Reaktionszeitverlängerung gemessen.

Die schmerzstillende Wirkung einer jeden Dosis wurde an dreimal 20 Tieren festgestellt, daraus die Mittelwerte der Reaktionszeiten, die quadratische Abweichung und die signifikante Differenz berechnet. Die Versuchsergebnisse zeigten, dass infolge der Deviationen mitunter nichteinmal eine 32%-ige Verlängerung der Reaktionszeit signifikant war, folglich konnte unter solchen Verhältnissen die Zeitverlängerung nicht mit voller Sicherheit, der schmerzstillenden Wirkung des angewandten Mittels zugeschrieben werden. Deswegen wurden — als Vorsichtsmassnahme — die Werte, bei denen die Reaktionszeitverlängerung unter 40% waren, nicht berücksichtigt.

Das Studium der quantitativen Zusammenhänge wurde, mit der, bei der Toxizität beschriebenen Methode dadurch erschwert, dass mittels unserer Methodik die schmerzstillende Wirkung sogar grossen Dosen von Prostigmin nicht an den Mäusen festgestellt werden konnte, z. B.: die Reaktionszeit von 20 Tieren beträgt 20,5 Minuten, 35 Minuten nach Einführung von 0,1 mg/kg Prostigmin beträgt sie 20,9 Minuten. Folglich hat die Dosis tolerata maxima keine schmerzstillende Wirkung. *Slaughter* (2) vermeint an Katzen bei den



bereits stark toxischen Dosen von 0,165 mg/kg Prostigmin eine 27%-tige schmerzstillende Wirkung festzustellen, er behauptet jedoch, dass die Tiere von dieser Dosis in einem Zustand gesetzt wurden, in welchem sie sich „nicht mehr um den Schmerz kümmerten“. Die Hälfte dieser Dosis, d. h. 0,086 mg/kg, erwies sich wirkungslos. Unserer Meinung nach, kann kaum von einer analgetischen Wirkung des Prostigmins gesprochen werden. Wir stellten so uns die Aufgabe, die Wirkung von Kombination solcher Mittel festzustellen, von denen eines keine schmerzstillende Wirkung hat.

Der folgende Weg wurde gewählt: in einem Koordinatensystem, auf dessen  $x$  Achse die Morphindosen (0,8-bis 5 mg/kg) aufgetragen wurden, und auf die  $y$  Achse die Prozente der schmerzstillenden Wirkung (50–250%) wurde die Dosis-Wirkungskurve des Morphins dargestellt, es wurden danach zu denselben Morphindosen Prostigmin gemengt (0,001, 0,01 und 0,1 mg/kg) und danach die Dosis-Wirkungskurven der Morphin-Prostigminmischungen festgestellt. Bei der Annäherung der erhaltenen Punkte wurde als Grundlage angenommen, dass die Wirkungskurve der Morphindosen im Allgemeinen mit einer „S“-formigen Kurve, oder einer Geraden angenähert werden kann (8). Im unteren Abschnitt der „S“-Kurve kann mit Messmethoden nicht differenziert werden; wir fanden, dass dies mit unserer Methode bei den unter 40%-tigen Fällen eintritt. Der obere Abschnitt ist das Gebiet, in welchem die Wirkung mit der Dosis kaum zunimmt. Dies trat bei uns, bei den Werten über 250% ein. Bei der Anwendung von mittleren Dosen (1–5 mg/kg), entspricht den erhaltenen Werten sowohl mathematisch, wie biologisch die lineare Annäherung am besten.

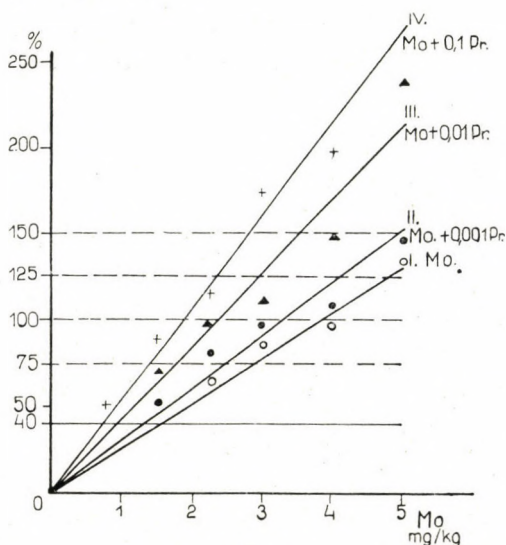


Abb. 2.

Synergismus der schmerzstillenden Wirkung von Morphin (Mo) und Prostigmin (Pr).



Abbildung 2. bezeigt, dass das Prostigmin die analgetische Wirkung des Morphins steigert. Den verschiedenen analgetischen Wirkungsstärken entsprechende Isobolenkurven wurden auf folgender Weise gewonnen: von der Y Achse ausgehend wurden mit der X Achse parallele Gerade gezogen, den Werten von 75, 100, 125, und 150% entsprechend. Die Schnittpunkte dieser Geraden mit den vier Dosen-Wirkungskurven wurden abgelesen, und in einem anderen Koordinatensystem aufgezeichnet, auf dessen X Achse die Dosen des Morphins, und y Achse die Dosen des Prostigmins aufgetragen wurden. Durch Verbindung der so erhaltenen Punkte wurden 4 Isobolen erhalten (Abb. 3), auf welchen auf jeden beliebigen Punkte die benötigten Morphin- und Prostigmin Dosen ablesbar sind, deren gemeinsame Dosierung eine 75, 100, 125, und 150 prozentige Schmerzstillung verursacht. Die mathematische Annäherung der Geraden und Isobolen erfolgt auf folgender Weise:

TABELLE 3.

Zahl der Versuchstiere	Dosis mg/kg		Normale Reaktionszeit (sec)	Reaktionszeit nach analgetikum (sec)	Wirkung in %	Signifikante Differenz
	Morphin	Prostigmin				
60	0,8	—	24,7 ± 2,5	27,6 ± 1,3	12 ± 6	(1,7)
60	1,5	—	22,3 ± 2,0	30,4 ± 2,7	36 ± 10	3,1
60	2,25	—	20,5 ± 1,0	34,2 ± 1,1	66 ± 11	12,2
60	3,0	—	21,0 ± 1,8	39,6 ± 2,8	88 ± 3	7,9
60	4,0	—	22,5 ± 3,9	43,8 ± 3,8	98 ± 29	5,2
60	5,0	—	22,3 ± 1,1	52,6 ± 7,6	134 ± 22	5,5
60	0,8	0,1	21,3 ± 3,1	32,5 ± 3,4	52 ± 9	3,4
60	1,5	0,1	26,1 ± 4,0	49,9 ± 5,0	90 ± 34	3,6
60	2,25	0,1	25,4 ± 3,2	54,7 ± 6,3	116 ± 15	5,8
60	3,0	0,1	18,8 ± 2,1	52,3 ± 11,4	174 ± 29	4,0
60	4,0	0,1	20,2 ± 1,3	59,5 ± 4,0	196 ± 32	13,3
60	5,0	0,1	27,2 ± 2,5	102,5 ± 8,3	275 ± 20	8,6
60	0,8	0,01	20,8 ± 2,9	26,3 ± 2,5	26 ± 9	(1,1)
60	1,5	0,01	19,5 ± 0,6	33,3 ± 3,8	70 ± 15	5,1
60	2,25	0,01	23,1 ± 2,9	45,8 ± 6,0	98 ± 18	5,9
60	3,0	0,01	17,9 ± 0,9	38,1 ± 2,1	111 ± 7	7,4
60	4,0	0,01	18,8 ± 1,0	47,0 ± 7,3	150 ± 26	5,4
60	5,0	0,01	25,0 ± 2,0	84,8 ± 7,3	239 ± 18	11,1
60	0,8	0,001	19,1 ± 0,8	26,4 ± 2,1	39 ± 14	(1,5)
60	1,5	0,001	19,3 ± 0,6	29,4 ± 4,0	52 ± 9	3,5
60	2,25	0,001	23,3 ± 2,6	42,3 ± 2,8	81 ± 24	6,2
60	3,0	0,001	21,9 ± 3,3	43,7 ± 7,5	98 ± 29	3,7
60	4,0	0,001	21,0 ± 1,9	43,5 ± 6,7	108 ± 28	3,3
60	5,0	0,001	20,6 ± 1,6	51,3 ± 10,4	149 ± 37	4,1

Die gefundenen Werte wurden auf Grund des Prinzips der kleinsten

Quadrate der  $y = mx$  Geraden angenähert; hier bedeutet  $m = \frac{\sum xy}{\sum x^2}$ . Es wur-

den auf dieser Weise die folgenden Geraden gewonnen: 1.  $y = 26,706 x$ ; 2.  $y = 30,349 x$ ; 3.  $y = 42,707 x$ ; 4.  $y = 53,912 x$  (Abb. 2).



Die Isobolen wurden hier auch, wie bei der Toxizität, mit der Parabelle  $y = bx^a$  angenähert; mit dem Unterschiede, dass  $y$  hier die Prostigmin-, und  $x$  die Morphindosen bedeuten. Da aber hier ein Punkt der Isobolen die  $x$  Achse schneidet, was für  $y = 0$  bedeutet, dessen Logarithmus undefinierbar ist, wird statt  $y = 0$ ,  $y = 0,0001$  angenommen, was auch biologisch zulässig ist, da — wie es aus der Abbildung ersichtlich ist — die Wirkung von 0,0001 mg/kg Prostigmin gleich 0 ist. Demgemäss sind die für die gewünschten Werte von 75, 100, 125, und 150% Gleichungen der Isobolen: 1.  $y = 2,8085 x^{-9,159}$ ; 2.  $y = 28,796 x^{-9,159}$ ; 3.  $y = 170,04 x^{-9,159}$ ; 4.  $y = 1180,6 x^{-9,159}$ . Siehe Fig. 3.

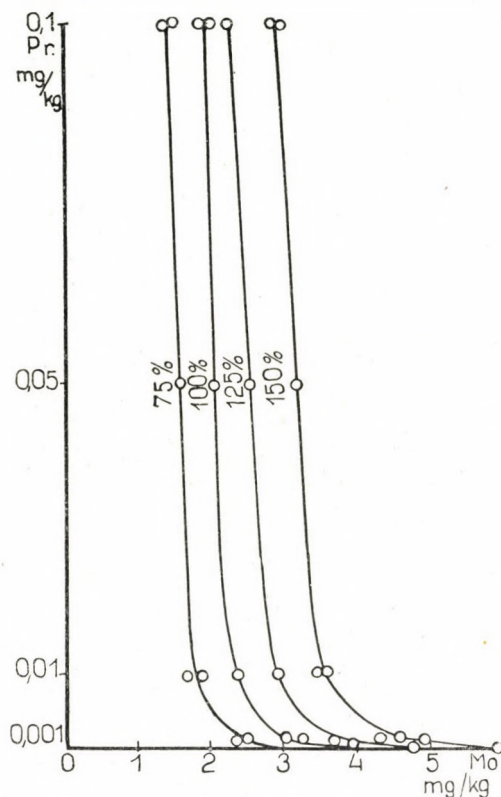


Abb. 3.

Isobole des Morphin-Prostigmin-Synergismus in Bezug auf die analgetische Wirkung.

#### 4. Die Morphin-Prostigmin Wirkung auf die Atmung

Zur Messung des Atmungsvolumens wurde die von Herr und Pórszász modifizierte Methode von E. Impens verwendet. Die Versuche wurden an 7 Kaninchen im Gewichte von 1,5—2,5 kg vorgenommen. Die Arzneimittel



wurden subkutan verabfolgt. Um eine Angewöhnung zu vermeiden, wurden die Versuche an einem Kaninchen höchstens wöchentlich zweimal gemacht. Die Versuche wurden auf folgender Weise ausgeführt: eine dreiviertel Stunde nach der Aufbindung der Atmungskappe wurde die normale Atmungsfrequenz und Volumen bestimmt. Danach wurde 120 Minuten lang die Wirkung von 1 mg/kg Morphin beobachtet. Den maximalen Grad der Atmungsvolumenabnahme beobachteten wir 40–90 Minuten nach der Injektion. An denselben Tieren wurde vier Tage später die gemeinsame Wirkung von 0,1 mg/kg bzw. von 0,01 mg/kg Prostigmin und 1 mg/kg Morphin bestimmt, unter den gleichen Verhältnissen. Die Versuchsergebnisse sind auf Tabelle 4 detailliert dargestellt.

TABELLE 4.

Ordnungszahl des Ver- suchstieres	Verringerung des Atmungsvolumens in % ausgedrückt		
	Nach Dosierung von		
	1 mg/kg Morphin	1 mg/kg Morphin und 0,1 mg/kg Prostigmin	1 mg/kg Morphin und 0,01 mg/kg Prostigmin
1.	23	66	—
2.	38	55	—
3.	33	54	—
4.	23	43	—
5.	23	38	—
6.	25	—	26
7.	31	—	22
Durchschnitt	$28 \pm 5,5$	$51 \pm 9$	24
Signifikante Differenz 3,9			—

Daraus ist es ersichtlich, dass die das Atmungsvolumen herabsetzende Wirkung des Morphins durch 0,1 mg/kg Prostigmin gesteigert wird. Während nämlich das Morphin das Atmungsvolumen durchschnittlich mit  $28 \pm 5,5\%$  vermindert, beträgt diese Verringerung mit 0,1 mg/kg Prostigmin gemeinsam verabreicht  $51 \pm 9\%$ . Dies bedeutet eine 82%-ige Wirkungssteigerung. Durch Zugabe von 0,01 mg/kg von Prostigmin wird die Wirkung des Morphins nicht beeinflusst.

Es ist zu Bemerken, dass 0,1 mg/kg Prostigmin beim Kaninchen keine Wirkung verursacht.

#### *Besprechung der Ergebnisse*

Die Versuche an den Mäusen und Kaninchen haben somit den Synergismus zwischen Morphin und Prostigmin bestätigt, und dessen potenzierenden Charakter bewiesen. Die genauen Zusammenhänge wurden bereits bei den



Versuchsergebnissen besprochen. Vom theoretischen Standpunkte erscheint es interessant zu erwägen, welche Folgerungen bezüglich des Wirkungsmechanismus der an dem Synergismus teilnehmenden Mitteln gezogen werden können? Die Toxizität im Gegenwart von Atropin, eröffnet in dieser Frage die interessantesten Zusammenhänge.

Die Abschwächung des Synergismus auf Einwirkung von Atropin ist evident. Wenn wir den dritten Radius der Abb. 1 betrachten, ist es augenscheinlich, dass die  $DL_{50}$  ohne Atropin 75,85 mg/kg Morphin und 0,041 mg/kg Prostigmin, jedoch mit Atropin 160,18 mg/kg Morphin und 0,086 mg/kg Prostigmin, also bedeutend mehr, ausmacht. Das Atropin hemmt bloss die Wirkung des Prostigmins, da die  $DL_{50}$  des Morphins mit und ohne Atropin unverändert bleibt. Es ist jedoch aus den Versuchsergebnissen ersichtlich, dass an der Toxizität des Prostigmins wenigstens zwei Einflüsse ausschlaggebend sind, deren einer durch das Atropin aufgehoben wird, während der andere, der allen Anschein nach, bei der Potenzierung von grösserer Wichtigkeit ist, durch das Atropin nicht beeinflusst wird, da der Synergismus erhalten bleibt, und sogar in Falle wo die Morphindosis noch genug bedeutend ist, einen potenzierenden Charakter hat. In diesem Abschnitt ist die  $DL_{50}$ , laut obigem Beispiel, grösser als auf der „S“-Kurve, offenbar desshalb, weil der eine, an der Toxizität eine Rolle spielende Faktor, durch das Atropin ausgeschaltet ist. Da die parasympatische Wirkung des Atropins und die Cholinesterase hemmende Wirkung des Prostigmins bekannt sind, muss man darauf folgern, dass dieser Faktor nur das Acetylcholin-Kumulieren sein kann. Es ist heute eine allgemein angenommene Ansicht, dass das Atropin die zentralen Wirkungen des Acetylcholins hemmt (9). *Gesell* und *Hansen* (10) haben bewiesen, dass das Atropin die extrinsischen und intrinsischen Wirkungen des Acetylcholins im zentralen Nervensystem kraftvoll hemmt; damit wurde die starke anti-Eserin Wirkung des Atropins erklärt. Nach Meinung anderer (11) können die zentralen Wirkungen, des durch sicher Acetylcholin-Kumulierung wirkenden DFP, an Affen und Katzen mittels Atropin ausgeschaltet werden, wie dies auch mit den Änderungen des EEG bewiesen wurde. Dasselbe wurde auch an Menschen bewiesen (12). Bekanntlich werden die Prostigminwirkungen zum Teil durch Acetylcholin-Kumulierung erzielt, es scheint daher die Annahme berechtigt, dass die  $DL_{50}$  des Prostigmins durch Atropin desshalb gesteigert wird, weil dies die angehäuften Acetylcholin Wirkungen hemmt. Gleichviel scheint es jedoch, dass dieser Faktor an dem Synergismus der Morphin-Prostigmin Toxizität eine wesentlich kleinere Rolle spielen muss, da der Synergismus auch bei Atropin-Schutz an langen Abschnitten bestehen kann.

Die im Allgemeinen gültige *Bürgi*-Regel (13) an den vorliegenden Fall angewendet, ist es wahrscheinlich, dass das Morphin und das Prostigmin einander über verschiedene Angriffspunkte potenzieren. Da das Morphin den



Tod der Mäuse durch Krämpfe zentralen Ursprungs zustande bringt (14), ist es anzunehmen, dass das Prostigmin diese Wirkung des Morphins verstärkt, jedoch von einem andern Angriffspunkte. Da die vom Prostigmin auf die Muskeln entfaltete direkte Wirkung bekannt ist (15, 16), ist es möglich, dass diese Wirkung peripherisch ist.

Diese Versuche wurden mit grossen Dosen von Atropin ausgeführt, daher ist es nicht ausgeschlossen, dass die angewandte Menge des Mittels, nicht nur eine Wirkung des Prostigmins neutralisierte, sondern auch imstande war, durch seine eigene Wirkung das Bild des Synergismus zu verändern.

Was die Schmerzstillung betrifft, so kann die Behauptung (2), dass das Atropin den schmerzstillenden Synergismus aufhebt — infolgedessen würden das Morphin und das Prostigmin auf gemeinschaftlichen cholinergischen Wege eine Wirkung ausüben — nicht so einfach bewiesen werden. In Orientierungsversuchen haben wir gerade die entgegengesetzte Beobachtung gemacht. Bemerkenswert erscheinen von diesem Standpunkte die Untersuchungen von *Frommel* und seinen Mitarbeitern (17, 18), nach welchen zwischen den Schlafmitteln und dem Prostigmin ein Synergismus bestehe, wogegen *Friedberg* nachgewiesen hat, dass zwischen den Schlafmitteln und Atropin ein Synergismus besteht (19).

Wegen den vielen, in der Literatur vorkommenden Widersprüche in der Frage der Schmerzstillung, erscheint es notwendig, den Zusammenhang zwischen den Morphin und den Cholinesterase hemmende Mitteln zu untersuchen, von dem Standpunkte, welche Rolle die Sensibilierung der Acetylcholinwirkung in der schmerzstillenden Wirkung des Morphins spielt. Andererseits könnte die Untersuchung der Wirkung anderer Schmerzstillgemitteln in ihrer Zusammenwirkung mit verschiedenen Cholinesterase hemmenden Agenten, die Frage beantworten, ob es sich hier bloss um eine gegenseitige Stärkung der spezifischen Wirkungen der einzelnen Mitteln handelt, oder ob bei der Verstärkung der schmerzstillenden Wirkung der Cholinesterase-Aktivität Verminderung eine Rolle zufällt. Auf diese Frage gedenken wir, in unserer nächsten Arbeit eine Antwort zu geben.

Dem Institut für angewandte Mathematik, übermitteln wir für die uns bei der mathematischen Aufarbeitung unserer Ergebnisse gewährte liebenswürdige Hilfe unseren herzlichen Dank.

#### ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Synergismus zwischen Morphin und Prostigmin konnte in den Schmerzstillungs- und Toxizitäts Versuchen an Mäusen und in der, das Atmungsvolumen herabsetzenden Wirkung an Kaninchen bewiesen werden.

2. Zum Ausdruck von Mass und Charakter des Synergismus wurde der Begriff des Synergismus-Index (Si) eingeführt, der den Ausdruck die Koordinaten des Kurvenmaximums auf den Achsen dargestellten vollen Dosis in Prozenten bedeutet. Dies ist in unserem Falle: Im Toxizitäts-Synergismus Si (12,93%, 14,06%) und im schmerzstillenden Synergismus Si (47%) durchschnittlich.



3. Wir haben festgestellt, dass das Atropin den bei der Toxizität bestehenden Synergismus nicht aufhebt.

4. Wir haben nachgewiesen, dass an dem Toxizitäts-Synergismus das Prostigmin mit mindestens zwei Angriffspunkten beteiligt ist, von denen der eine — die Acetylcholin-Kumulierung — von geringerer Bedeutung zu sein scheint.

#### LITERATUR

1. Slaughter D., Gross E. G.: J. of Pharmacol. a. exp. Ther. 68., 96. 1940.
2. Slaughter D., Munsell D. N.: Ibidem 68., 104. 1940.
3. Wramner T.: Acta Physiol. Scan. 9., 336. 1945.
4. Flodmark S., Wramner T.: Ibidem 9., 88. 1945.
5. Christensen E. N., Gross E. G.: J. Am. Med. Ass. 137., 594. 1948.
6. Loewe S., Muischneck H.: Naunyn-Schmiedebergs Arch. 114., 311. 1926.
7. Pórszász J. und Herr F.: Kísérletes orvostudomány, 2., 292. 1950.
8. Müller L. C.: Annals of the New York Academy of Science. 51., 34. 1948.
9. Feldberg W.: Physiol. Rev. 25., 596. 1945.
10. Gesell R., Hansen E. T.: Amer. J. Physiol. 139., 371. 1943.
11. Wescoe W. C., Green R. E., McNamara B. P., Krop S.: J. of Pharmacol. a. exp. Ther. 92., 63. 1948.
12. Grob D., Harvey A. M., Langworthy O. R., Lilienthal jr. J. L.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 81., 257. 1947.
13. Bürgi E.: Die Arzneimittelkombinationen. Berlin. 1938.
14. Tatum A. L., Seevers M. H., Collins K. H.: J. of Pharmacol. a. Exp. Ther. 36., 447. 1926.
15. Ricker F. W., Wescoe W. C.: Ibidem. 88., 58. 1946.
16. Wescoe W. C., Ricker F. W., Brothers: M. J. Ibidem. 97., 190. 1949.
17. Frommel E., Favre M., Vallette F.: Helv. Med. Act. 15., 314. 1948.
18. Frommel E., Bischler A., Gold P., Favre M., Vallette F.: Helv. Physiol. Acta. 5., 64. 1947.
19. Friedberg C. K.: Naunyn-Schmiedebergs Archiv. 160., 278. 1931.

Сообщили: Андраш Комлош, Иван Порсас, Йозеф Кнолл.

#### МОРФИО ПРОСТИГМИННЫЙ СИНЕРГИЗМ

(Фармакологический Институт, Будапешт.)

#### Резюме:

Мы изучили на мышах количественные отношения синергизма, существующие так для ядовитости, как и для болеутомительности морфия и простигмина. Относительно ядовитости мы убедились, что синергизм обладает сильно потенцирующим характером. Для определения степени синергизма, мы ввели новое понятие, синергический индекс ( $S_i$ ). Мы определяем его следующим образом: из входящих в синергизм врачебных средств, мы принимаем те дозы, которые достаточны сами по себе для достижения изучаемого действия. за 100%. Индексом синергизма будут необходимые для оптимума действия данные, выраженные в полных дозо-процентах. Оптимум действия соответствует при графическом изображении максимуму изобольной кривой (рисунок 1, кривая „S“).

Мы исследовали каким образом большая доза атропина (320 мг/кг.) влияет на синергизм ядовитости. Она не изменяет  $DL_{50}$  морфия, тогда как при простигмине он повышается с 0,3 мг/кг. на 2,0 мг/кг. Синергизм в то же время не исчезает вполне, но только уменьшается и остается сильнее всего, там, где в комбинации выступает сравнительно мало простигмина (рисунок 1, кривая „A“). Из этого мы заключили, что простигмин участвует в синергизме по крайней мере двумя точками действия, из которых ацетилхолиновая кумуляция играет меньшую роль.

Для исследования болеутоления мы применили выработанный Порсасом и Герром, контактно-тепловой метод.

Количественные отношения синергизма мы описали (рисунки 2 и 3). Мы доказали, что простигмин сам по себе не имеет болеутомляющего действия, однако повышает в очень сильной степени болеутомляющее действие морфия. Это выражается тем, что в отношении устранения боли „ $S_i$ “ равняется 47%.

Мы нашли также синергизм в отношении действия морфия, ослабляющего дыхание кролика.



## LYMPHOZYTÄRE CHORIOMENINGITIS VIRUS- (ARMSTRONG) ERKRANKUNGEN IN UNGARN\*

Von

G. Ivánovics u. A. Koch

(Institut für Allgemeine Pathologie und Bakteriologie, Univ. Szeged.)

(Eingegangen: 20. IV. 1950.)

Während der letzten zwei Jahre gelangten in den Szegeder Universitätskliniken und auch in den Abteilungen des Allgemeinen Krankenhauses mehrere ätiologisch unbekannte, akute Meningitisfälle zur Aufnahme. Das Ergebniss der Liquoruntersuchungen dieser Fälle gab keinen näheren Aufschluss über die Entstehungsursache der Krankheit; der unter gesteigertem Druck entleerte, kristallklare Liquor enthielt Zellen in mässig erhöhter Zahl, Bakterien waren selbst nach sorgfältigster Untersuchung nicht nachweisbar. Insgesamt gelangte das Material von 11 Kranken mit unbekannter Aetiologie zur Untersuchung. Der Liquor wurde Mäusen intrazerebral eingepflegt, wodurch in drei Fällen das Virus der lymphozytären Choriomeningitis (im folgenden LCM) isoliert werden konnte. In den übrigen 8 Fällen ergaben unsere Untersuchungen bez. der Aetiologie keine näheren Anhaltspunkte, auch heilten alle diese Fälle binnen kurzer Zeit. In einem Meningitisfalle mit ähnlichem klinischen Bilde und Krankheitsverlauf waren wir nicht in der Lage, während der Krankheit die Liquoruntersuchung vorzunehmen, weshalb wir in diesem Falle mit in der späten Rekonvaleszenzphase gewonnenem Blutserum dem LCM-Virus gegenüber eine Neutralisierungsprobe anstellten, die sich als positiv erwies.

In einer von uns (1) kürzlich veröffentlichten Arbeit wurde über einen Fall von LCM-Virusinfektion berichtet, der von uns im Jahre 1948 beobachtet wurde. Im selben Jahre wurden auch einige LCM-Erkrankungen von *Luner Woroschilowa* und *Itzelis* (2) in der Sowjetunion und von *Mesrobeanu* und *Badenski* (3) in Rumänien beschrieben. Vorher hatte man auf dem Kontinent nur in Frankreich (4, 5), England (6, 7) und Holland (8, 9) diese Krankheit gefunden.

Deshalb hielten wir es für lohnend, über unsere weiteren Beobachtungen an Hand einer kurzen Beschreibung des klinischen Bildes und der Epidemiologie der Fälle zu berichten.

\* Ein Teil dieser Arbeit wurde mit Unterstützung des Ungarischen Wissenschaftlichen Rates durchgeführt.



# BESCHREIBUNG UND EPIDEMIOLOGISCHE DATEN DER FÄLLE

*Fall 1:* J. R., 10 jähr. Mädchen, Kind einer Landarbeiterfamilie. Aufnahme in das Städtische Allgemeine Krankenhaus am 2. V. 1948. Seit einer Woche Kopfschmerzen, daneben häufiges Erbrechen. Status: Getrübtes Sensorium, Kernig und Brudzinsky positiv. Lumbalpunktion: Entleerung leicht getrübten Liquors unter kaum gesteigertem Druck. Pándy: +, Waltner: + + + +, Zucker nicht herabgesetzt. Zellenzahl: 2376/3, vorwiegend Lymphozyten. Bakteriologische Untersuchung: steril. Aus dem am 23. V. entnommenen Liquor wurde das LCM-Virus nachgewiesen. Am 3. VI. mildere, seltener auftretende Kopfschmerzen, das Erbrechen hat aufgehört. Keine Meningeal-symptome, am 9. VI. wurde Patientin geheilt entlassen. Temperatur am Tage ihrer Einlieferung: 38,9 C°, tagelang danach subfebril, vom 28. V. ab fieberfrei.

*Fall 2:* Frau J. I., 32 jähr. Landarbeiterin. Beginn der Krankheit am 11. V. 1948 mit Kopfweh und Erbrechen. Am 13. V. Aufnahme in die Interne Klinik der Universität. Häufiges Erbrechen, Kopfschmerzen, Schwindel. Am 16. V. Lumbalpunktion: Liquorentleerung unter mittlerem Druck. Zellenzahl: 1800/3, vorwiegend Lymphozyten. Pándy: + +, Nonne-Appelt: + +. Am 30. V. Liquor wasserklar, 130/3 Lymphozyten, Zucker: 42 mg%, Pándy: + +, Schellak: + + +. Am 9. VI. geheilt entlassen. Bis zum 5. Tage der Krankheit bestand Fieber (Maximum: 38,8 C°), von da an bis zu ihrer Entlassung subfebril.

Den Liquor dieser Kranken auf Erreger zu untersuchen, hatten wir keine Gelegenheit, deshalb wurde mit den am 20. X. 1948 und am 5. I. 1949 entnommenen Blutproben ein Neutralisierungsversuch dem aus Fall 1 isolierten Virusstamm gegenüber vorgenommen. Beide Male wurde durch das gewonnene Blutserum der Virusstamm in bedeutendem Masse neutralisiert (s. Versuchsteil, Tab. 4).

## *Bemerkenswertere epidemiologische Daten aus Fall 1 und 2*

Die Kranken wohnten etwa 10 km von der Stadt Szeged entfernt in Algyó in einem alleinstehenden Gehöft. In den zwei Räumen des Gebäudes wohnte die Mutter mit ihren beiden Kindern. Der Erkrankung des einen Kindes (J. R., Fall 1) am 24. IV. 1948 folgte kurz darauf am 11. V. 1948 (16 Tage später), die Erkrankung der Mutter unter ähnlichen Symptomen. Das zweite Kind erkrankte nicht. In dem Hause, in dem auch die Vorratskammer untergebracht war, fanden sich eine grosse Anzahl Mäuse. Am 25. V. 1948 wurden vier dieser Tiere auf Vorhandensein des Virus untersucht. Diese Untersuchung hatte ein negatives Ergebnis. Gehirn und Milz von drei weiteren, am 30. V. daselbst gefangenen Mäusen wurden gesondert miteinander vereint und weissen Mäusen intrazerebral injiziert. Die damit geimpften Tiere erkrankten und ein Teil von ihnen ging zugrunde, aus ihren Organen wurde der Virusstamm durch weitere Passagen isoliert.

*Fall 3:* L. J., 17 jähr. Landarbeiter. Beginn der Krankheit am 18. I. 1948 mit Kopfweh und Fieber. Zwei Tage nach Ausbruch der Krankheit wurde er fieberfrei, hatte aber nach einigen Tagen wiederum Temperaturerhöhung. Zweimal Erbrechen. Am 11. II. Aufnahme in die Interne Klinik der Universität. Jagdhund-Lage, Fragen werden nur schwer beantwortet. Kernig positiv. Lähmungen bestehen nicht. Entleerung des wasserklaren Liquors unter erhöhtem Druck, keine Fibrinausscheidung. Pándy: + + + +, Zellenzahl: 1368/3, vorwiegend Lymphozyten. Temperatur: 38 C°. Am 13. II. Liquor unverändert, bakteriologisch untersucht: steril. Isolierung des Virus aus dem Liquor. Am 20. II. geheilt entlassen. Patient war bis zum 5. Tage nach der Aufnahme fieberig (Maximum: 38,8 C°).



*Epidemiologische Bemerkungen:* Der Kranke wohnte zusammen mit seiner 5 köpfigen Landarbeiterfamilie in einem Hause der geschlossenen Siedlung der Gemeinde Tápé. Weitere ähnliche Erkrankungen kamen in der Familie nicht vor. In dem Dorfhause hausten auch in der Vorratskammer zahlreiche Mäuse. Am 26. I. 1949 wurden 11 Tiere gefangen, die, in drei Gruppen eingeteilt (3, 4 und 4 Tiere), aufgearbeitet wurden. Ein Teil der mit den gruppenweise vereinigten Hirnen und gesondert mit den Milzen geimpften Versuchsmäuse erkrankte. Aus den mit den Milzen der einen Vierer-Gruppe geimpften Tieren wurde das Virus in mehreren Passagen isoliert. Am 26. I. wurde die Untersuchung an drei weiteren Mäusen vorgenommen und dabei das Virus aus den Milzen der gefangenen Mäuse ebenfalls isoliert.

*Fall 4:* M. J., 17 jähr. Landarbeiter. Erkrankt am 22. II. 1949 mit starkem Kopfweh und Fieber. Am 27. II. Aufnahme in die Universitätsnervenklinik. Kopfschmerzen, Genickstarre, zweimal Erbrechen. Beiderseitiger Nystagmus. Babinsky links positiv. Temperatur bei der Aufnahme: 37 C°. Liquorentleerung unter erhöhtem Druck. Pándy: ++, Zellenzahl: 2600/3 Lymphozyten, 56/3 Leukozyten. Eiweiss: 80 mg%. Liquor bakteriologisch steril. Isolierung des Virus aus der Liquorprobe erfolgreich. Am 2. III. wurde der Kranke fieberfrei. Am 12. III. geheilt entlassen.

*Epidemiologische Bemerkungen:* Der Kranke wohnt in der an der Peripherie Szegeds gelegenen dorfartigen Siedlung Oncsa. In der mit ihm wohnenden fünfköpfigen Familie kam nur diese eine Erkrankung vor. In diesem Hause trafen wir weniger Mäuse an, nach dreimaliger Jagd konnten insgesamt nur vier Mäuse gefangen werden. In den Organen dieser Tiere konnte aber das Virus nicht nachgewiesen werden.

#### EXPERIMENTELLER TEIL

*Methodisches:* Isolierung des Virus: 0,03 ccm des Liquors wurden intrazerebral je vier Albinomäusen eingeimpft. Die gefangenen Mäuse, in denen wir Virusträger vermuteten, wurden mit Chloroform getötet, ihre Gehirne und gesondert ihre Milzen den einzelnen Versuchsgruppen entsprechend vereint, im Verhältnis 1 : 10 mit physiolog. Kochsalzlösung verrieben und nach kurzem Zentrifugieren mitsamt der Flüssigkeit weissen Mäusen intrazerebral einverleibt.

Die in den Versuchen benützten Mäuse gehörten entweder unseren eigenen, gut abgesonderten Zuchttieren an oder stammten von einem zuverlässigen Mäusehändler. Bei der Kontrollierung der Tiere liessen wir grösste Sorgfalt walten, da bekanntlich (Traub, 10) unter den Albino-Zuchtmäusen Populationen vorkommen können, die mit dem LCM-Virus infiziert sind. Ein Teil der Versuchsmäuse wurde durch blinde Passagen kontrolliert, oder es wurde versucht, durch intrazerebrale Verabreichung einer 2%-igen Stärkelösung die eventuell vorhandene latente Infektion manifest zu machen. Auf diese Weise wurden im Laufe unserer Studien nahezu 200 der benützten Mäuse kontrolliert, Virusträger wurden aber in keinem Falle gefunden.

Die Serumneutralisierungsproben wurden nach dem Verfahren von Olitzky u. Mitarbeitern (11) durchgeführt. Das Virus-Serumgemisch wurde für 2 Stunden im Wasserbad von 37 C° gehalten und dann mit jeder Verdünnung je 4 Mäuse intrazerebral geimpft. Als Serumverdünnungsflüssigkeit diente stets 10% inaktiviertes Kaninchenserum enthaltende physiologische Kochsalzlösung.

Hyperimmunes Meerschweinchenserum erhielten wir im Falle mässig pathogener Stämme durch intraperitoneale Impfung der Tiere mit steigenden Dosen des aus Mäusen stammenden Virusmaterials. Im Falle des von Rivers (12) isolierten, für Meerschweinchen



hochpathogenen W. E.-Stammes\* wurden die Tiere mit formalinbehandeltem Virusmaterial aus den Meerschweinchen (Milz) immunisiert (13).

In unseren Komplementbindungsversuchen hielten wir uns im wesentlichen an die Methode von *Smadel* und Mitarbeitern (14). Als Antigen wurde ein aus der Milz infizierter Meerschweinchen hergestellter Extrakt benützt. Die Milzextrakte wurden hinsichtlich ihrer selbsthemmenden und spezifischen Wirkung ausgetitriert. Gewöhnlich gaben sie in Verdünnungen von 1:40—1:80 mit hyperimmunem Meerschweinchen serum sehr scharfe Komplementbindung. In den Versuchen gelangten zwei Antigen-Einheiten und 1,5 Komplement-Einheiten zur Anwendung. Die Hammelblutkörperchensuspension war 2,5%-ig. Gesamtvolumen: 1,25 ccm. Inkubationszeit: 30 Minuten bei 37 C°.

*Eigenschaften unserer isolierten Stämme.* Unsere drei, aus Liquor isolierten Virusstämme (J. R., L. J. und M. J.) erwiesen sich nach mehreren (6—10) Passagen als in bedeutendem Masse pathogen für Mäuse. Die aus Gehirn und Milz der infizierten Tiere hergestellten Verdünnungen von 1:10 000 bis 1:100 000 töteten nach intrazerebraler Impfung regelmässig am 6—8. Tage die Tiere. Mit höheren Verdünnungen geimpfte Mäuse blieben gewöhnlich symptomfrei. Unsere aus den im Hause der Erkrankten gefangenen Mäusen isolierten Stämme (Stamm A. E. und T. E.) waren für Mäuse etwas stärker pathogen und töteten in einigen Versuchen einen Teil der geimpften Tiere selbst noch in der Verdünnung von 1:1 000 000.

Für Meerschweinchen waren diese Stämme im allgemeinen weniger oder mittelmässig pathogen. Drei Stämme (von denen zwei aus Liquor und einer aus dem Gehirn einer Maus stammte), die nach einigen Mäusepassagen Meerschweinchen intrazerebral eingepflegt wurden (Hirn-Emulsion 1:10—1:100), verursachten vom 6. Tage an bei diesen Tieren mässiges Fieber und zu Ende der zweiten Woche den Tod einiger der infizierten Tiere. Nach einigen Meerschweinchenpassagen konnte die Virulenz dieser Stämme soweit gesteigert werden, dass Suspensionen von 1:100, intrazerebral verabreicht, die Meerschweinchen regelmässig töteten.

Zwei weitere Virusstämme töteten die Meerschweinchen nicht, doch blieben diese Erreger im Organismus der Meerschweinchen noch lange Zeit am Leben. In der Milz der mit diesen zwei Stämmen infizierten Meerschweinchen gelang uns am 12. Tage nach der intrazerebralen Verabreichung der Nachweis des Virus durch Überimpfung auf Mäuse.

Für Kaninchen erwiesen sich unsere Stämme als vollkommen apathogen; die intrazerebral geimpften Tiere blieben symptomfrei und von 5. Tage an konnte das Virus selbst im Hirn nicht nachgewiesen werden.

#### *Identifizierung unserer Virusstämme*

Die pathogenen Eigenschaften unserer isolierten Stämme sprachen dafür, dass wir es mit dem LCM-Virus zu tun hatten. Die mit diesen Stämmen

\* Der Stamm wurde uns von Herrn H. v. *Magnus* (Kopenhagen) freundlichst zur Verfügung gestellt.



geimpften Mäuse gingen unter den von *Armstrong*, (15) *Rivers* und *McNair Scott* (12) sowie auch von *Traub* (10) so charakteristisch geschilderten Symptomen zugrunde. Wie bekannt, ist die Meerschweinchen-Pathogenität Schwankungen unterworfen. Das gleiche Verhalten beobachteten wir auch bei den von uns isolierten Stämmen. Jene Stämme, die eine tödliche Infektion der Meerschweinchen nicht zu bewirken vermochten, blieben im Organismus der Tiere lange Zeit am Leben. Für das *Armstrong*-Virus ist die Apathogenität für Kaninchen ebenfalls charakteristisch.

Im Verlaufe unserer gemeinsam mit *Török* (1) angestellten vorhergehenden Untersuchungen hielten wir den ersten unserer isolierten Stämme (J. R.) auf Grund seiner charakteristischen pathogenen Eigenschaften, bzw. schon auf Grund der Ergebnisse unserer Filtrations- und aktiven Immunisierungsversuche für das LCM-Virus, doch schien uns eine genauere Identifizierung unserer Stämme notwendig, da das sog. Pseudo-Lymphozytäre choriomeningitis-Virus (16) sich in seinen pathogenen Eigenschaften von denen des *Armstrong*-schen Virus in nichts unterscheidet. Die endgültige Identifizierung der Stämme geschah durch passive Schutzversuche, in denen Vergleiche mit dem authentischen, von *Rivers* isolierten W. E.-Stamm angestellt wurden, sowie auch durch Komplementbindungsproben. Die Ergebnisse unserer mit dem Serum hyperimmunisierter Meerschweinchen durchgeführten Schutzversuche finden sich in Tabelle 1.

TABELLE 1.

*Schutzwirkung des Serums von mit verschiedenen Stämmen hyperimmunisierten Meerschweinchen*

Immunserum (Meerschweinchen)	Verdünnung des Virus W. E.					Verdünnung des Virus J. R.				
	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
J. R. ....	.	4/4	4/4	4/4						
W. E. ....	.	3/4	4/4	4/4		4/4	4/4	4/4	.	.
A. E. ....	.					4/4	4/4	4/4	.	.
Normal .....	.	1/8	0/7	3/7	3/7	.	.	0/4	0/4	2/4

W. E. Stamm: RIVERS Standard-Stamm, J. R. Stamm aus der Kranken und A. E. Stamm aus Mäusen isoliert.

Der Nenner der in der Tabelle enthaltenen Bruchzahlen gibt die geimpften und der Zähler die am Leben gebliebenen Tiere an.

In unseren gekreuzten Schutzversuchen gewährleisteten die untersuchten Sera 100 D. M. L. der heterologen Stämme gegenüber einen sicheren Schutz.

Die Komplementbindung wurde mit wechselnden Mengen hyperimmunem Meerschweinchenserums geprüft. Unsere diesbezüglichen Resultate sind in Tab. 2 zusammengefasst.



TABELLE 2.

*Komplementbindungsversuch mit fallenden Serumengen aus hyperimmunisierten Meerschweinchen*

Serum	Antigen	Serummenge in ccm					Kontrollen
		0,05	0,025	0,012	0,006	0,003	
J. R.	A. E.	++++	++++	++++	—	—	—
	W. E.	++++	++++	++++	—	—	—
	Normal	—	—	—	—	—	—
A. E.	A. E.	++++	++++	++++	—	—	—
	W. E.	++++	++++	++++	—	—	—
	Normal	—	—	—	—	—	—
W. E.	A. E.	++++	++++	++++	++++	++++	—
	W. E.	++++	++++	++++	++++	+	—
	Normal ....	—	—	—	—	—	—

J. R. Stamm aus der Patientin, A. E. Stamm aus Mäusen isoliert.

Die Antigenstruktur der untersuchten Virusstämme erwies sich auf Grund unserer Komplementbindungsversuche als identisch.

*Mit Rekonvaleszenten-Blutserum angestellte Neutralisierungsproben*

Den Beweis für den Zusammenhang zwischen der Infektion und unseren Virusbefunden liefern jene Versuche, in denen wir mit zu verschiedenen Zeitpunkten der späten Rekonvaleszenz vorgenommenen Proben im Blutserum spezifische Schutzstoffe nachwiesen. Die Schutzwirkung des Serums unserer Patientin J. R. (Fall 1) ist in Tab. 3 dargestellt. Als Vergleich bzw. Kontrolle diente das Serum eines gesunden Säuglings.

TABELLE 3.

*Die Virus-neutralisierende Eigenschaft des Blutserums der Rekonvaleszentin J. R. dem homologen Stamm (J. R.) gegenüber*

Zeitpunkt der Blutentnahme *	Tag des Versuchs	J. R.-Serum				Normalserum			
		Virusverdünnung				Virusverdünnung			
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>
19. VII. 48.	9. VIII. 48.		4/4	4/4	4/4	0/4	0/4	4/4	4/4
1. V. 1949.	1. II. 49.	4/4	4/4	4/4	.	0/4	0/4	2/4	.

\* Beginn der Krankheit am 1. V. 1948.

Wie ersichtlich, entfalteten die von der Rekonvaleszentin J. R. in der 12. und 38. Woche nach dem Ausbruch der Krankheit entnommenen Blut-



serumproben eine ausgesprochene Schutzwirkung dem homologen Stamm gegenüber.

Fall 2 (Frau J. I.) stand uns während ihrer klinischen Behandlung für unsere Untersuchungen nicht zur Verfügung. Hier ermöglichte die auf Grund unseres Verdachtes in der späten Rekonvaleszenz vorgenommene Serumneutralisation die sichere Diagnose. Das in der 33. Woche der Erkrankung entnommene Blutserum neutralisierte sowohl den aus dem Liquor ihrer Tochter isolierten (J. R.) Stamm, wie auch den aus den in ihrem Hause gefangenen Mäusen isolierten (A. E.) Stamm in entsprechendem Masse (s. Tab. 4).

TABELLE 4.

*Schutzwirkung des Serums von Frau J. I. den aus ihrem Kinde (J. R.) und aus den Organen der in ihrem Hause gefangenen Mäuse (A. E.) isolierten Virusstämmen gegenüber*

Serum	Verdünnung des Virusstammes J. R.				Verdünnung des Virusstammes A. E.			
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>
Frau J. I. ....	4/4	4/4	4/4	4/4	3/4	4/4	4/4	.
Kontrolle .....	.	1/8	0/8	4/8	.	0/4	1/4	2/4

### *Epikrise*

Auf Grund der im klinischen und experimentellen Teil beschriebenen Daten konnten wir das Vorkommen des LCM-Virus in Ungarn mit Sicherheit feststellen. Von einer eingehenden Analysierung des klinischen Bildes möchten wir absehen; in allen 4 Fällen handelte es sich um klinisch gutartige, mit lymphozytärem Liquorbefund einhergehende, unkomplizierte Meningitiden, die ohne Folgeerscheinungen heilten. Die Fälle kamen sporadisch vor und betrafen sämtlich unter ländlichen Verhältnissen lebende Personen. In den Dorfhäusern der Betroffenen konnten eine beträchtliche Anzahl Mäuse gefangen werden, aus denen das Virus, zwei Infektionszentren entsprechend, nachgewiesen werden konnte. Dies stimmt gut mit jenen epidemiologischen Beobachtungen überein, die schon vor uns von verschiedenen Autoren (*Armstrong* und *Sweet*, (17) *Dalldorf* und Mitarbeiter, (18) *Havens*, (19) *Farmer* und *Janeway* (20) und *Armstrong* (21) beschrieben wurden. Es unterliegt keinem Zweifel, dass die Möglichkeit einer Infektion gegeben war; die Tiere hatten nämlich u. a. auch Zutritt in die Speisekammern und Wohnräume der Häuser, wodurch der unmittelbare Kontakt zwischen Mensch und Tier gesichert, bzw. die Verunreinigung der Lebensmittel der Hausbewohner mit den Exkrementen der Mäuse (*Haas*, 22) ermöglicht war. In dem Doppelfall, wo der Erkrankung des Kindes 16 Tage später die Erkrankung der Mutter folgte, könnte auch von einer unmittelbaren Kontaktinfektion gesprochen werden. Dagegen



spricht allerdings die Inkubationszeit, die bei dieser Krankheit 2—14 Tage beträgt (*Lépine* und Mitarbeiter (4), *Farmer* und *Janeway* (20)), sowie der Umstand, dass bisher mit Sicherheit als humane Kontaktinfektionen festgestellte Fälle nicht beschrieben wurden (abgesehen von der einen Beobachtung *Armstrongs* (21)), derzufolge eine bei der Obduktion eines infolge LCM-Virusinfektion Verstorbenen mitwirkende Person erkrankt und erstarb. Es ist deshalb mit grosser Wahrscheinlichkeit anzunehmen, dass auch die Erkrankung der Mutter von den infizierten Mäusen ihren Ausgang nahm, die in der Wohnung in grosser Zahl hausten.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Im Laufe der Untersuchungen des Blutes und Liquors von 11 mit der Diagnose „Seröse Meningitis“ gepflegten Kranken gelang es in drei Fällen, das Virus der lymphozytären Choriomeningitis zu isolieren. Eine weitere Erkrankung konnte an der Hand der während der Rekonvaleszenz vorgenommenen Serumneutralisierungsproben diagnostiziert werden. In drei Erkrankungsfällen wurde der Beweis für die Entstehungsursache der Infektion dadurch erbracht, dass aus den Organen der in den Wohnhäusern der Kranken gefangenen Mäuse das Virus isoliert werden konnte.

#### LITERATUR

1. *Ivánovics G.*, *Koch S.* und *Török G.* Orvosok Lapja, 1948. No. 17.
2. Cit. *Csumakov M. P.* Klinitscheskaja Medicine. 1949. No. 6.
3. *Mesrobian I.* und *Badenski G. H.* Arch. Roum. Path. Exper. Mikrob. 15., 253. 1948.
4. *Lépine P.* und *Sautter V.* Ann. Inst. Past., 61., 519. 1938.
5. *Lépine P.*, *Mollaret P.* und *Kreis B.* C. r. Acad. Sci., 204. 1846., 1937.
6. *Findlay C. M.*, *Alcock, N. S.* und *Stern R. O.* Lancet, 1936., I., 650.
7. *McCallum F. C.* und *Findlay C. M.* Lancet, 236., 1370., 1939.
8. *Prick J. J. G.*, *Antoin van Leuwenhoek*, 11., 177. 1946.
9. *J. J. G. Prick* und *J. D. Verlinde*, Ned. Tijdschrift voor Genees., 91., 1146. 1947.
10. *Traub E. J.* Exp. Med., 63., 533. 1936.
11. *Olitzky P. K.* und *Casals J. J.* A. M. A. 134., 1224. 1947.
12. *Rivers T. M.* und *McNair Scott T. F.*, Science 81., 439., 1935; J. Exp. Med. 63., 397. und 415. 1936.
13. *Traub E. J.* Exp. Med., 68., 95. 1938.
14. *Smadel J. E.* und *Wall M. J. J.* Bacteriology 41., 421. 1941.
15. *Armstrong C.* und *Lillie P. D.* Publ. Health Rep., 49., 1019. 1934.
16. *MacCallum F. O.*, *Findlay G. M.* und *McNair Scott T.* Brit. J. exp. Path. 20., 260. 1939.
17. *Armstrong C.* und *Sweet L. K.* Publ. Health Rep., 54., 673. 1939.
18. *Dalldorf G. C.*, *Jungeblut W.* und *Umphlet M. D.* J. A. M. A. 131., 25. 1946.
19. *Havens W. P. J.* A. M. A., 137., 857. 1948.
20. *Farmer W.* und *Janeway C. A.* Medicine 21., 1. 1942.
21. *Armstrong C.* The Military Surgeon 91., 129. 1942.
22. *Haas V. N.* Publ. Health Rep., 56., 285. 1941.



Дёрдь Иванович и Шандор Кох:

ЗАБОЛЕВАНИЯ ОТ ВИРУСА ЛИМФОЦИТАРНОГО ХОРИОМЕНИНГИТА  
(БОЛЕЗНЬ АРМСТРОНГА) В ВЕНГРИИ

(Институт общей патологии и биологии, Сегед.)

Бактериологически стерильная спинно-мозговая жидкость 11 больных, использованных на диагноз „*meningitis serosa*“ — в клиниках и общем госпитале в Сегеде, была привита внутри-церебрально мышам, а также исследована на присутствие вирусов. Удалось изолировать, из ликвора трех больных, вирус, который сохранялся через значительное число пассажей. Этот вирус был признан, на основании своих патогенных свойств и своего иммунно-биологического поведения, лимфоцитарным вирусом хориоменингита. Антигенная структура родов, соответствовала роду американца В. Е. Риверс. Дальнейший случай болезни Армстронга был констатирован посредством произведенной во время выздоровливания пробы нейтрализации серума.

Четыре случая заболеваний Л. Х. М. вирусом произошли среди людей живущих в деревенских домах. Удалось объяснить возникновение этих четырех заболеваний, впервые встречаемых в Венгрии с такой этиологией, на основании исследования мышей пойманных в доме заболевших: Из органов (селезенка, мозг), пойманных в кладовой и квартире больных, авторы изолировали вирус Л. Х. М.



## ANTIGENIC BEHAVIOUR OF FIBRINOGEN

By :

*L. Kesztyüs, T. Szilágyi, S. Nikodémusz and T. Jávör*

(Institute of Path. Physiology, University Debrecen.)

(Received : 23. III. 1950.)

Previous observations on the antigenic properties of fibrinogen are contradictory owing to the lack of an available method for preparing chemically pure fibrinogen. This was generally carried out by the method of *Hammarsten* (1) by precipitating the fibrinogen by conc. sodium chloride. In such solutions the functional properties of fibrinogen were not altered, it did not lose its clotting ability, but the solutions contained impurities in the form of other plasma proteins.

*Kyes and Porter* (2) succeeded in obtaining fowl fibrinogen antisera from rabbits which precipitated the homologous antigen, but did not react with horse and sheep fibrinogen. *Saeki* (3) pointed out that fibrinogen possesses a relative species specificity and reacts in a lesser degree with immune sera of fibrinogens originated from other species. In anaphylactic experiments, guinea pigs sensitized with goat fibrinogen reacted typically with goat, sheep, and beef fibrinogen; the injection of dog fibrinogen caused only mild symptoms (4). Pig fibrinogen antisera obtained from rabbits precipitated sheep fibrinogen and pig sera, but did not react with sheep sera and fibrinogens of other animals (5). According to *Astrup and Darling* (6) the ammonium sulphate saturation limit of horse fibrinogen is at 25%, of beef fibrinogen at 30%, of chicken fibrinogen at 35 to 40%. The same thrombin acting on different fibrinogens has different pH optima (7) which may indicate some structural differences between the same. *Komatu* (8) found that beef fibrinogen immune sera precipitated beef, horse, dog and pig fibrinogen, but did not react with the serum proteins of these animals; dog plasma antisera reacted only with their homologous antigen. *Bauer and Engel* (9) observed no precipitation between beef fibrinogen antisera and beef sera. According to *Kato* (10) the mammal fibrinogen immune sera from rabbits gave precipitation with the fibrinogens of other mammals with the exception of rabbits; fowl fibrinogen was also precipitated by these immune sera in a lesser degree. This observation was confirmed by others. *Hektoen and Welker* (11) found that rabbit fibrinogen



antisera reacted not only with the homologous fibrinogen, but also with rabbit plasma.

#### Method

In our experiments crystalline beef and pig fibrinogens prepared by the method of Laki (12) were used. Twice 5 rabbits, weighing 3000 and 3500 g each, respectively, were immunized by the i. p. injection of fibrinogen solutions (three times within three weeks, which means 0.2 g per rabbit). The animals were bled 7 days after the last injection.

#### Results

With these antisera precipitation tests were performed; homologous fibrinogen and homologous sera acted as antigens. The results are shown in Table 1, 2.

TABLE 1.

#### *Pig fibrinogen antisera*

No. of rabbits	Antigen: pig fibrinogen					
	4	16	64	250	1000	Control
301	—	±	++	±	—	—
302	++	++	+	±	—	—
997	++	++++	+++++	+++	+	—
999	+++	++++	++++	++	+	—
1000	++	++	+	±	—	—
Antigen: pig sera						
301	—	—	—	—	—	—
302	—	—	—	—	—	—
997	—	—	—	—	—	—
999	—	—	—	—	—	—
1000	—	—	—	—	—	—

TABLE 2.

#### *Beef fibrinogen antisera*

No. of rabbits	Antigen: beef fibrinogen					
	4	16	64	250	1000	Control
401	+++	++++	++++	+	—	—
402	+++	+++++	++++	++	—	—
1001	+	++	++++	+	±	—
1002	+	++	++++	+	±	—
1003	++	++	+++++	++	+	—
Antigen: beef sera						
401	—	—	—	—	—	—
402	—	—	—	—	—	—
1001	—	—	—	—	—	—
1002	—	—	—	—	—	—
1003	—	—	—	—	—	—



According to Tables 1 and 2, all of the antisera gave precipitation with the homologous fibrinogen, but none with homologous sera.

TABLE 3.

*Pig fibrinogen antisera*

No. of rabbits	Antigen: beef fibrinogen					
	4	16	64	250	1000	Control
301	—	+	++	±	—	—
302	—	±	++	±	—	—
997	+	++	++	±	±	—
999	+	++	++	+	—	—
1000	+	++	++	+	—	—
Antigen: beef sera						
301	—	—	—	—	—	—
302	—	—	—	—	—	—
997	—	—	—	—	—	—
999	—	—	—	—	—	—
1000	—	—	—	—	—	—

TABLE 4.

*Beef fibrinogen antisera*

No. of rabbits	Antigen: pig fibrinogen					
	4	16	64	250	1000	Control
401	++	++	+	—	—	—
402	±	++	+++	±	—	—
1001	++	+++	++	+	±	—
1002	++	++	++	±	—	—
1003	+	++	+	±	—	—
Antigen: pig sera						
401	—	—	—	—	—	—
402	—	—	—	—	—	—
1001	—	—	—	—	—	—
1002	—	—	—	—	—	—
1003	—	—	—	—	—	—

Table 3 and 4 show the results of the cross reactions: beef fibrinogen antisera reacted with pig fibrinogen and vice versa, pig fibrinogen antisera precipitated beef fibrinogen. Neither of the immune sera reacted with heterologous serum proteins.



The antigenic behaviour of fibrinogen lyophilisate sec. Richter (0,3% solution of beef fibrinogen) corresponds completely to that of crystalline fibrinogen.

TABLE 5.

*Antigen: fibrinogen lyophilisate*

No. of rabbits	Pig fibrinogen antisera					
	4	16	64	250	1000	Control
301	++	+++	+++	+	—	—
302	++	+++	+	±	—	—
	Beef fibrinogen antisera					
	4	16	64	250	1000	Control
1002	+++	+++	++	++	+	—
1003	++	+++	++	+	±	—

### Discussion

Beef and pig fibrinogen prepared by the method of *Laki inciteanti*) body formation when administered intraperitoneally into rabbits. The antisera gave no precipitation with the homologous and heterologous sera. This means that 1. *Laki's* fibrinogen possesses a high degree of purity and is free from immunologically evincible plasma protein impurities and 2. that the fibrinogen differs from the other plasma proteins in its antigenic structure. This difference is also shown by the known fact, that among plasma proteins fibrinogen alone has the ability to change on the action of thrombin from a globular form into a fibrous-hydrophobe one.

The cross reactions indicated also that fibrinogen differs immunologically from the other plasma proteins of the same animal, but is closely related to the fibrinogen of other species of animals. This corresponds more or less to the antigenic behaviour of casein. Milk casein of an animal belonging to any kind of species shows a closer biological relationship to the casein of another species than to the milk and serum proteins of its own species. This behaviour is to be attributed to the chemical structure (13).

Fibrinogen antisera have a higher titre with homologous, than with heterologous fibrinogen. This indicates that fibrinogen has a minimal species specificity as compared to its organ i. e. „functional“ specificity.

Fibrinogen seems to possess a „mammal-specificity“ as far as beef and pig fibrinogen is concerned. For the further elucidation of this question we intend to carry out the same experiments with crystalline fowl fibrinogen. — Lyophilisation does not modify the antigenic behaviour of fibrinogen.

### SUMMARY

Rabbits were immunized with crystalline pig and beef fibrinogen prepared by the method of *Laki*. Precipitation tests with homologous and heterologous fibrinogens and sera indicated a slight species specificity and marked „organ“ specificity. All immune sera reacted also with the beef fibrinogen lyophilisate sec. Richter.



## LITERATURE

1. *Hammersten O.* Pflüger: Archiv 22., 431. 1880.
2. *Kyes P. and Porter R. T. J.* Immun. 20., 85. 1931.
3. *Saeki S.* Arb. med. Univ. Okoyama 2., 610. 1931.
4. *Saeki S.* Arb. med. Univ. Okoyama 3., 1. 1932.
5. *Demarez M. L. C. r. Soc. Biol.* 109., 553. 1932.
6. *Astrup T. and Darling S.* Acta Phys. Scand. 4., 45. 1942.
7. *Astrup T. and Darling S.* Acta Phys. Scand. 3., 311. 1942.
8. *Komatu K.* Tohoku J. exp. Med. 29., 263. 1936.
9. *Bauer J. and Engel St.* Bioch. Z. 42., 399. 1912.
10. *Kato K.* Mitt. d. med. Ges. Tokio 36. 1922.
11. *Hektoen L. and Welker W. H. J.* Amer. med. Assoc. 80., 386. 1923.
12. *Laki K. Z.* physiol. Chemie 273., 95. 1942.
13. *Wells H. G. and Osborne T. B. J.* Infect. Dis. 29., 200. 1921; *Abderhalden E. and Rossner E. Z.* physiol. Chemie 168., 171. 1927.

Сообщили: Лоранд Кезтьюш, Тибор Силадьи, Иштван Никодемус и Тибор Явор.

## АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ФИБРИНОГЕНА

(Институт патологической физиологии, Дебрецен.)

## Резюме:

Встречаемые в литературе данные, касающиеся антигенных свойств фибриногена сами себе противоречат, что может быть объяснено тем обстоятельством, что фибриноген, производимый методом Гаммарстена, загрязнен другими видами альбуминов плазмы. Метод, применяемый нами, состоит в иммунизировании кроликов внутри брюшинно, посредством кристаллического говяжьего и свиного фибриногена, произведенного по способу Лаки (с общим количеством около 0,9 гр. фибриногена). Получаемые антисыворотки не осаждают ни гомологической, ни гетерологической сыворотки, тогда, как с другой стороны, свиной фибриноген может быть осажден не только посредством свиных фибриногенных антисывороток, но — хотя и в несколько меньшей степени — также и посредством говяжьих фибриногенных антисывороток и — наоборот. Из этих опытов следует, что фибриноген Лаки обладает высокой степенью чистоты и свободен от каких-бы то ни было белковых загрязнений, которые могли-бы быть прослежены иммунологическими методами и далее, что фибриноген разнится от других белковых плазм своей антигенной структурой, обладает весьма незначительной „видовой“ специфичностью, но определенной органной специфичностью.

Лиофилизированный фибриноген производимый фабрикой Рихтер осажден антисывороткой и следовательно лиофилизация не изменяет антигенного характера фибриногена.



## CLASSIFICATION OF SH. FLEXNERI

By:

*Károly Rauss*

(Institute of Hygiene, University Pécs.)

(Received: 31. III. 1959.)

In a previous paper (1) we showed that the antigenic structure of *Sh. flexneri* cannot be determined with *Weil's* primary antigens. The primary antigens are, in fact, complexes, their constituents being characteristic group and type antigens. These components are identical with the antigens the author earlier designated by the names of dominant group antigens and type antigens (2). We also pointed out that the primary antigens characterize groups, rather than types, because — with a few exceptions — the group antigens dominate in them, masking the type antigens.

### *Antigenic structure of Shigella flexneri*

*Madsen* (4) has recently reported on the antigenic structure of *Sh. flexneri* compiled from extensive material. His antigenic schema differs from our findings in some essential points. The comparative data can be read from Table 1. In Column 2 of this Table I have presented the structure of the primary antigens so that the symbols for the antigens which according to our earlier findings can be considered type factors (2), are separate from the designations for the group antigens. The letters in parenthesis beside the type antigens are the alphabetical designations proposed for them. The next Column (the 3rd) gives the proposed antigenic, or systematical schema. This is followed by *Madsen's* antigenic schema (4th Column). Finally, in the 5th Column, can be found a comparison of *Madsen's* nomenclatural designations and those proposed by the author.

I summarize the fruits of the comparison in what follows.

1. It can be seen that I put into the scheme only those group antigens which have a determinant character. The composition of non-determinant group antigens is by no means constant, even within the type. Hence the lower orders of group antigens which cause the serological continuity of the group are not given, nor do the more developed group antigens which have no diagnostic significance figure in it. We do not search for the equivalent of



*Madsen's* group antigens 3 and 4 because, according to our findings, they can be dispensed with in diagnosis. It is possible that the discovery of newer types will make it necessary to take more group antigens under consideration.

TABLE 1.  
*Antigenic structure of Sh. Flexneri*

1. Earlier designations of types	2. Structure of primary antigens		3. Proposed antigenic schema		4. <i>Madsen's</i> anti- genic schema		5. Equivalent antigens		
	antigens		antigens		antigens		<i>Madsen</i>	<i>Ra u s s</i>	
	group	type	group	type	group	type		group	type
"V", BC Vz, A	I I. III <sub>2</sub>	— III <sub>1</sub> (a)*	I I. III	— a	4 4, 6	I I. S	I S 6	I III	a
W, D Y W <sub>x</sub>	II <sub>2</sub> II <sub>2</sub> II <sub>2</sub> VII <sub>2</sub>	II, (b) ? VII <sub>1</sub> (c)	II II II. V	b ? c	3, 4 3, 4 7	II — II	II 3,4 7 II-	II V II	b ? c
Z, H	III, VII <sub>0</sub>	III <sub>2</sub> (d)	III. V	d	6, 7	III	III		d
103 Y <sub>1</sub> 103 z rabaulensis	IV <sub>1</sub> IV <sub>1</sub> III <sub>2</sub> IV <sub>1</sub>	IV <sub>2</sub> (e) IV <sub>3</sub> (f) IV <sub>3</sub> (f)	IV IV IV. III	e f f	3 6	IV IV IV	IV IV IV	IV IV IV	e f f
P <sub>119</sub> , G "X"	VII <sub>2</sub> VII <sub>0</sub>	V (g) —	V V	g —	7 3, 7	V —	V —		g
88, L, Y <sub>2</sub>	?	VI (h)	?	h	4	VI	VI		h

Legend: \* = proposed designation of type-antigens, . = not investigated.

2. According to *Madsen*, the type antigen of *W* and *W<sub>x</sub>* (II) is identical. According to our findings, however, *Madsen's* antigen II is a complex and contains, besides the group components, antigens which characterize the types aforementioned (Table 2).

TABLE 2.  
*Antigenic structure of types W and W<sub>x</sub>*

Serum	Exhausted with strains	Agglutinations of types				Antibody
		W	W <sub>x</sub>	Y	other types	
W	A + IV	+++	+++	++	—	II $\alpha$ II $\beta$ : b
W <sub>x</sub>	A + IV + H	+++	+++	++	—	II $\alpha$ II $\beta$ : c
W	A + IV + Y	+++	+++	—	—	II $\alpha$ : b
W <sub>x</sub>	A + IV + H + Y	+++	+++	—	—	II $\alpha$ : c
W	A + IV + W <sub>x</sub>	++	—	—	—	: b
W <sub>x</sub>	A + IV + H + W	—	++	—	—	: c
Antigenic structure		II $\alpha$ II $\beta$ : b	II $\alpha$ II $\beta$ : c	II $\beta$		

On exhausting serum "W" with strains "A" and IV one obtains a factor serum which agglutinates the members of group II (*W*, *W<sub>x</sub>*, *Y*) but also



contains the type specific component of type *W*. This factor-serum, exhausted with strain *Wx*, results, in fact, in a serum which agglutinates nothing but *W*. This agglutinating factor corresponds to the type antigen of strain *W*. Serum *Wx*, after absorption with strains *A + IV + H*, likewise contains the group factors and a factor specific for type *Wx*. That is to say, this serum, after exhaustion with strain *W*, still contains agglutinins for the homologous strain. Accordingly, type *Wx* contains a specific antigen, independent of *W* (Table 2).

As appears from Table 2, strain *Y* agglutinates in group-serum II prepared from either serum *W* or *Wx*. These sera absorbed with *Y* still agglutinate strains *W* and *Wx*, indicating the complexity of group factor II. This feature shows to which group strain *Y* belongs.

*Madsen* — in opposition to *Weil* — reports that in strain *Y* no type-specific factor was demonstrable. In our experiments, however, serum *Y* exhausted with the combination of strains *W + IV* agglutinates the homologous strain only. Due to the weakness of this reaction it should be reinvestigated with several strains before we can consider it certain to be the sign of the type-factor of strain *Y*.

3. Further divergences are to be found in group IV. *Madsen* deduced indirectly the presence of a group antigen in strain 103. The discovery that the *Y*<sub>1</sub> strain of *Sartorius* belongs to group IV led to the clearing-up of the antigenic structure of the group. From the data in Table 3 it can be seen that antigen IV, qualified as type antigen of type 103, can, after exhaustion with strain *Y*<sub>1</sub>, be separated into two parts: into a group antigen characteristic for the whole of group IV, and a type antigen (*e*). The type antigen of *Y*<sub>1</sub> and type 103z (III, IV) differ from 103, but are themselves identical (*f*). Types *Y*<sub>1</sub> and 103z (III, IV) are differentiated from one another by group antigen III.

TABLE 3.  
*Antigenic structure of group IV*

Serum	Exhausted with	Agglutinations of strains					Antibody
		IV (103)	<i>Y</i> <sub>1</sub>	III. IV (103 z)	A	F	
IV	A + F	+++	+++	+++	—	—	IV e
IV	A + F + <i>Y</i> <sub>1</sub>	++	—	—	—	—	— e
IV	A + F + III. IV	++	—	—	—	—	— e
<i>Y</i> <sub>1</sub>	A + F	+++	+++	+++	—	—	IV f
<i>Y</i> <sub>1</sub>	A + F + IV	—	++	++	—	—	— f
<i>Y</i> <sub>1</sub>	A + F + III. IV	—	—	—	—	—	ø
III. IV	A + F	+++	+++	+++	—	—	IV f
III. IV	A + F + IV	—	+	++	—	—	— f
III. IV	A + F + <i>Y</i> <sub>1</sub>	—	—	—	—	—	ø
Antigenic structure		IV : e	IV : f	IV : f	—	—	—

Strains A and F serve to remove the non-characteristic group antibodies and factor III.



4. Our data in respect of the antigenic structure of the other groups or types („V“, „Vz“,  $P_{119}$ , 88, „X“) accord completely with those of *Madsen*.

*Classification of Sh. flexneri*

As a result of the conclusions to be drawn from the data presented, I constructed an antigenic schema based on the principles of the *Kauffmann-White* Table.

If we break up the primary antigens into their parts and show the group and the type antigens separately, a diagnostic scheme characteristic of the Flexner group evolves. The framework of this scheme is made up of groups characterized by group antigens. The character of each group is determined by one dominant group antigen. Within the groups the types are distinguished in three ways: 1. Type antigen is linked to the group antigen; 2. a second group antigen joins the antigen which determines the group; 3. the group antigen constitutes the type, without any type antigen.

Column 3 of Table 1 shows the proposed antigenic scheme. Roman numerals corresponding to *Weil's* primary antigens mean the group antigens, the small letters the type antigens. *Weil's* antigen VII forms an exception, which is given the numeral V for the sake of continuity of the numerical designation. In this way 5 very distinctive groups take form, and a sixth in which I recorded one strain, the group antigens of which is not characteristic. The scheme is also shown in Table 4, from which it can be seen that to indicate the different sero-types I propose designation by antigenic formula.

TABLE 4.

*Proposed classification of Sh. Flexneri*

Groups	Types	Designation	
		Proposed	Earlier
I.	1 2	I: — I. III: a	“V”, BC Vz, A
II.	1 2 3	II: b II. V: c II: ?	W, D Wx Y
III.	1	III. V: d	Z, H
IV.	1 2 3	IV: e IV: f IV. III: f	103 Y <sub>1</sub> 103 z
V.	1 2	V: g V: —	$P_{119}$ , G “X”
?	1	—: h	88, L, Y <sub>2</sub>



### Discussion

In order to decide as to the systematical rightness of the proposed schema, the experimental data we have presented must be examined from two stand-points.

I. Can we in reality speak of genuine groups?

II. Is there sufficient evidence to prove the independence of the types?

*I. Groups.* 1. The group links several serologically distinct types into a common serological unit. From what follows it appears that this rule is valid in the formation of the *Sh. flexneri* groups.

2. Antigens III and V are the same as *Wheeler's* (5) and *Madsen's* (4) 6 and 7. Antigen V links two types in one group and is also often a component of other groups (II, III). Though antigen III represents independently a group which has only one member, its combination with other group antigens puts its group-type beyond question.

I have already described the group character of antigen II. In the types linked by this antigen we have demonstrated qualitatively differing type antigens.

The group-forming character of antigen IV is emphasized by the fact that it brings together 3 types different in structure into one group.

Antigen I can, in my opinion, be considered a group antigen linking types „V” and „V<sub>z</sub>”. In favour of its group character it can be argued that the „V<sub>z</sub>” strain has a special type antigen (a). „V” can be considered a type which has lost its type antigen.

3. As counter-argument it should be mentioned that one type (Newcastle), can be put into none of these groups. As this type can easily be diagnosed with the aid of its type antigen, it would be artificial to search for group antigens unimportant in diagnosis just to prove the correctness of the system. Future investigation will show to which group it belongs.

*II. Types.* 1. Strains containing a distinctive antigen can be defined in the first place as types.

In the *Salmonella* group the difference which appears in one of the factors of the group antigen is considered to have a type-distinguishing value when such strains are found regularly under natural circumstances (for example VI, VII, a-enx; VI, VIII, a-enx; VI, XIV, XXIV, *y* - 1,7; VI, XIV, XXV, *y* - 1,7). According to this principle, in the *Flexner* group the type character needs to be justified in only one case (IV, III: *f*).

A still more significant change is the loss of the type antigen. In the case of the regular, natural occurrence of such a combination, to doubt the type characteristics would be unreasonable. In this way type characteristics develop in two well-known, frequently occurring members of the group (I: - („V”);



V: — ("X")). A serological analogy to this formula is perhaps the serological relationship of *S. enteritidis* and *gallinarum*.

2. The majority of the members of the *Sh. flexneri* group are set apart from one another within the group by distinctive antigens.

The characteristic antigen for type „ $V_z$ ” has also been demonstrated by *Madsen* (s).

We succeeded in isolating the antigen (b) characteristic of type “W” from the group antigen hitherto considered a type antigen. The special antigen (c) of type “Wx” likewise came to light during my investigations.

The special antigen of type “Z” was also found by *Boyd* (6), *Wheeler* (5) and *Madsen* (4).

In group IV 3 types were to be distinguished. In the course of my investigations I succeeded in differentiating the type antigens (e, f) of the two types described by *Wheeler* (5) (103, 103<sub>z</sub>). Antigen IV, hitherto considered a type antigen, is a complex, part of which has proved to be a group antigen, part of it a type antigen. Its distinctive antigen (f) distinguishes *Sartorius* type  $Y_1$  from *Wheeler*’s 103. 103<sub>z</sub> and  $Y_1$  have the same type antigen, group antigen III distinguishing them from one another.

Two types belong in group V. *Boyd*’s “ $P_{119}$ ” and *Sartorius* type “G”, which are identical, contain a distinctive antigen (g) which is the same as *Wheeler*’s and *Madsen*’s type antigen V. The other member of the group is type “X”, which has no type antigen (see below).

Newcastle (*Boyd* 88) type I have already mentioned, as being strain with distinctive type antigen, belonging to an unknown group.

3. The structure of strains “V”, “X” and “Y” must be dealt with separately. In conformity with *Madsen*, I consider strain “V” to be a variant of  $V_z$  which has lost its type antigen and one of its group antigens. It cannot be considered an artificial minus variant because of its regular and frequent natural occurrence (see what has been said above).

Type “X” (V: —) can be considered to be of the same value as type I: —, probably split off from strain “ $P_{119}$ ”.

Whether strain Y may be looked upon as an independent type, or a naturally occurring minus variant of type W, should be settled by further investigations, in order to clear up the question of the specific antigen of type Y.

\*

The essential of the proposition is the grouping of the new and earlier-known antigens according to the principles of the *Kauffmann-White* Table. The *Sh. flexneri* group is still small, but we have no cause to doubt that it is going to expand further with the emergence of new types, on a sound basis of serological diagnosis, and then the importance of the groups in diagnosis will show up more clearly than in its present dimensions. I see a proof of the



practical value of the schema in the fact that we succeeded in identifying the groups and types of 168 *Sh. flexneri* strains (3).

Among the propositions thus far made, my suggestions approach the closest to the scheme of *Kauffmann* and *Ferguson* (8), but emphasize more strongly the systematic and diagnostic importance of group classification. It is my opinion that the groups cannot be considered to be types, and that we have sufficient evidence in hand to believe the types to be definite units, so that it is not reasonable to degrade them to sub-types. As designation for the different types we, in agreement with *Ewing* (9), see the most correct solution to be symbolization by antigenic formula, which unmistakably expresses their serological peculiarities, rather than to give them letters or numbers.

#### SUMMARY

By our experimental data we have proved that *Sh. flexneri* can be classified in groups consisting of several types. On the strength of these observations we have put *Sh. flexneri* into a system built up on the principles of the *Kauffmann-White* Table.

#### LITERATURE

1. *Rauss, Magyar, Kétyi*, 1950. Kísérletes Crvostudomány (in the press).
2. *Rauss*, 1946. Népegészségügy 26 : 242.
3. *Rauss, Magyar, Kétyi*, 1950. Népegészségügy (in the press).
4. *Madsen*, 1949. On the classification of *Shigella* types. Ejnar Munksgaard, Kobenhavn.
5. *Wheeler*, 1944. J. Imm. 48 : 87.
6. *Boyd*, 1938. J. Hyg. 38 : 477.
7. *Sartorius and Reploh*, 1932. Zbl. Bakt. I. Orig. 126 : 10.
8. *Kauffmann and Ferguson*, 1948. Acta Path. Scand. 25 : 621.
9. *Ewing*, 1949. J. Bact. 57 : 633.

Сообщил Кароль Раушш

#### КЛАССИФИКАЦИЯ „*SH. FLEXNERI*“

Институт общественной гигиены, Печ

#### Резюме

Результаты исследований антигенной структуры „*Sh. Flexneri*“ показаны данным таблицы I. В столбце/таблицы, мы находим хорошо известные символы различных типов, тогда как во 2-ом столбце помещена схема антигенной структуры, определенной на основании нашего исследования и согласованной с номенклатурой Вейля, причем схема приведена таким образом, что групповые и типовые антигены показаны отдельно. В 3-ем столбце мы видим предложенную схему антигенной структуры. Здесь групповые антигены отмечены символами Вейля, тогда как типовые антигены обозначены мелкими латинскими буквами. Так как результаты наших исследований разнятся в существенных пунктах от новейших данных встречаемых в литературы, то мы показали в 4-ом столбце антигенную структуру, определенную согласно методу Мадсена.

5-ый столбец показывает результаты сравнения наших символов с символами Мадсена.



По этим данным оказывается, что, за исключением „V“ и „X“ типовые антигены были во всех типах. Типовые антигены типов  $V_z(a)$ ,  $z(d)$ ,  $P_{119}(e)$  и 88.h) тождественны с найденными также Мадсенем. Типовые антигены, различающиеся от найденных Мадсенем, следующие: антиген II был разложен на две части: сложный групповой антиген, обозначенный II, которым типы W, Y и Wx взаимно связаны, и два типовых антигена для типов W(b) и Wx(c). (II. таблица). Таким же образом из антигена  $M_2 \delta V$  были выделены групповые и типовые антигены (таблица III). Типовой антиген рода 103 был обозначен знаком „e“; роды „Sartorius“  $Y_1$  и  $103_z$  содержат тот же типовой антиген, обозначенный „f“ „Y“ род, вероятно, также содержит типовой антиген, но он очень слабо развит и необходимы дальнейшие исследования целого ряда родов, чтобы быть в состоянии с уверенностью разрешить этот вопрос.

Групповые антигены тождественны с групповыми антигенами Мадсена и первичными антигенами Вейля. В нашей номенклатуре мы придерживались символов Вейля, с той единственной разницей, что антигену VII мы придали символ V.

После выделения групповых и типовых антигенов, развивается характерная сыровоточная система, основанием которой являются, подобно тому, как и в случае таблиц Кауфман—Уайт — групповые антигены. Роды могут быть подразделены с помощью пяти групп антигенов на 5 сыровоточных групп. Внутри этих групп можно различить 12 типов, большей частью с помощью типовых антигенов, а в меньшей части с помощью групповых антигенов („V“, „X“ и „Y“).

В типе 88 (Ньюкастль) мы не нашли никаких характерных групповых антигенов, сомнительно к какой группе принадлежит этот род в настоящее время.

Тип „V“ мы рассматриваем, как вариант рода „V<sub>z</sub>“, утративший свой типовой антиген. Таким-же образом мы думаем что типы „Y“ и „X“ являются вариантами родов „W“ и „P<sub>119</sub>“ (соответственно), утративших свои типовые антигены (таблица IV).

Исследуя 168 родов Sh. Flexneri, встречаемых в Венгрии, мы убедились в практической ценности описанной сыровоточной системы.



## ENDOKRINE VERÄNDERUNGEN BEI EXPERIMENTELLER AKUTER GERBSÄUREVERGIFTUNG, MIT BESONDERER RÜCKSICHT AUF DIE NEBENNIERENRINDE<sup>1</sup>

Von

*Béla Korpássy, János Török und Kálmán Kovács*

(Pathologisch-Anatomisches und Pathohistologisches Institut, Univ. Szeged.)

(Eingegangen: 3. XII. 1949.)

Von der in der Heilkunde in jüngster Zeit noch allgemein verwendeten und für unschädlich gehaltenen Gerbsäure hat es sich herausgestellt, dass sie ein ausserordentlich wirksamer hepatotoxischer Stoff ist: Versuchstieren parenteral verabreicht, verursacht sie eine azinozentrale Lebernekrose. Korpássy hat zuerst darauf hingewiesen, dass die nach der Injektion von Gerbsäurelösung sich am frühesten meldende Leberveränderung der serösen Hepatitis entspricht. Nicht selten sind die Versuchstiere zugrunde gegangen, und eine schwerere Leberschädigung war auch histologisch nicht nachweisbar, nur die Zeichen einer serösen Entzündung. Das morphologische Substrat des unmittelbaren Ablebens in diesen Tieren suchend, konnten wir mehrfach schwere und ausgedehnte Nebennierenschädigungen beobachten. Nebennierenrinden-Nekrose und Blutungen wurden auch an einer örtlichen Gerbsäurebehandlung teilhaftig gewordenen gebrannten Menschen beobachtet. Alle diese Beobachtungen begründen, nach unserer Meinung, in genügender Weise die systematische Untersuchung der inneren Sekretionsdrüsen bei einer experimentellen akuten Gerbsäurevergiftung.

### *Material und experimentelle Anordnung*

Zu unseren Experimenten verwendeten wir junge weisse Ratten von annähernd gleichem Gewicht, des gleichen Geschlechts und gleichen Alters. Die Tiere bekamen bei dem einen Experiment 200, beim anderen 250 mg pro kg Gerbsäure (Acid. tannic U. S. P. Johnson, London) s. c. in 2%-iger Lösung.

<sup>1</sup> Nach einem Vortrag, gehalten am 12. Februar und 23. März 1949 in Sitzungen der Pathologen-Fachgruppe und der Wissenschaftlichen Gruppe der Freien Gewerkschaft der Szegeder Ärzte.



Nach 48 Stunden wiederholten wir diese Behandlung. Ungefähr 75% der auf diese Weise behandelten Ratten verendeten 54 bis 60 Stunden nach der ersten Injektion, ungefähr 25% überlebten die Behandlung. Letztere töteten wir nach Tagen oder nach Wochen. Bei einem anderen Experiment gaben wir 400 mg pro kg Gerbsäure ein, in 4%-iger Lösung, ebenfalls s. c., und töteten die Tiere nach 1, 2, 4, 6 u. s. w. Stunden.

Zur Kontrolle benützten wir junge weisse Ratten desselben Stammes, Alters und Geschlechts und von annäherndem Gewicht wie die behandelten und hielten sie in vollkommen gleicher Weise und bei gleicher Verpflegung wie die behandelten Tiere. Den Kontrolltieren injizierten wir soviel ccm destilliertes Wasser s. c. als die Versuchstiere Gerbsäurelösung erhielten. Insgesamt untersuchten wir die Organe von mehr als 80 behandelten und von 40 Kontrollratten.

Nach dem Ableben, bzw. der Tötung der Tiere präparierten wir sofort ihre Organe, und wogen bei dem einen Experiment (je 16 Tiere) die Nebennieren, den Thymus, die Milz und die Nieren in frischem Zustand auf einer analytischen Waage. Die Hypophysen derselben Tiere wogen wir nach einer Fixierung in 4%-igem Formalin ebenfalls auf einer analytischen Waage. Wir bestimmten auch die trockene Stoffmenge, bzw. den Wassergehalt der Nebennieren, des Thymus, der Milz und der Nieren. Die Organe der übrigen behandelten und Kontrolltiere fixierten wir zum Zwecke histologischer Aufarbeitung in 4%-igem Formalin.

### *Die Daten der Untersuchungen*

*Veränderung des Gewichtes der endokrinen und der übrigen Organe.* Schon bei der Obduktion der Ratten fiel es auf, dass die Nebennieren der verendeten behandelten Tiere, verglichen mit denjenigen der Kontrollen, sich vergrößert hatten und ihre Farbe — entgegen der normalen schwefelgelben — eine ausgesprochen dunklere, rauchgraue Schattierung zeigte. Der Thymus dagegen war bedeutend kleiner als der der Kontrolltiere, während die Nieren etwas grösser waren (Abb. 1).

Die Daten der Gewichtsmessung der Nebennieren, des Thymus, der Hypophyse, der Milz und der Nieren sind auf Tabelle I dargestellt. Sowohl in der Gruppe der Kontroll-, wie in der der behandelten Tiere figurierten je 16 ♀ Ratten. Die behandelten Tiere verendeten 56 bis 60 Stunden nach der ersten Gerbsäureinjektion. Die Gewichte der Organe rechneten wir auf 100 g Rattengewicht um. Aus den Daten der Tabelle ergibt sich, dass die Nebennieren der mit Gerbsäure behandelten Tiere um 46,8% grösser, der Thymus um 40,8% kleiner sind als diejenigen der Kontrolltiere. Auf Grund der Berechnung der quadratischen Abweichung ( $\sigma$ ) bzw. des wahrscheinlichen Fehlers (P. E. Diff.) des Unterschiedes zwischen dem Gewicht der Organe



der beiden Gruppen kann als bewiesen angenommen werden, dass die Nebennieren der behandelten im Vergleich zu den Kontrolltieren tatsächlich grösser,



Abb. 1.

Links Organe einer behandelten ♀, rechts dieselbe Organe einer unbehandelten ♀ Ratte. Von oben nach unten: Nieren, Milz, Nebennieren und Thymus.

ihr Thymus dagegen tatsächlich kleiner sind (signifikanter Unterschied). Die Vergrößerung der Hypophyse und der Nieren (um 23,9%, bzw. 27,3% grösseres Gewicht) kann nur als wahrscheinlich bezeichnet werden.

TABELLE 1.

	Kontrolltiere		Behandelte Tiere		Gewichts- differenz	P. E. Diff.	Gewichts- differenz in %
	Zahl der Ratten	Gewicht mg pro 100 g Rattengew. und ♂	Zahl der Ratten	Gewicht mg pro 100 g Rattengew. und ♂			
Nebennieren	16 ♀	40,36 ± 4,16	16 ♀	59,28 ± 12,68	18,92	3,33	+ 46,85
Thymus . . . . .	16 ♀	220,14 ± 58,65	16 ♀	130,29 ± 40,53	89,85	17,81	- 40,81
Hypophyse ..	15 ♀	6,30 ± 1,13	14 ♀	7,81 ± 1,70	1,51	0,53	+ 23,96
Milz . . . . .	16 ♀	430,90 ± 64,75	16 ♀	390,48 ± 108,77	40,42	31,63	- 9,38
Nieren . . . . .	16 ♀	1049,30 ± 87,68	16 ♀	1336,10 ± 223,50	286,80	60,01	+ 27,33

Der prozentuelle Wassergehalt der Nebennieren, des Thymus, der Nieren, sowie der Milz bei den behandelten und den Kontrollratten ist auf Tabelle II dargestellt. Aus diesen Daten ergibt sich, dass der Wassergehalt der ver-



grösserten Nebennieren der behandelten Tiere um 4,8% grösser erscheint als der beobachtete Wassergehalt in der Kontrollgruppe. Ein wenig grösser (um 1,4%) ist auch der Wassergehalt der Nieren der behandelten Tiere, während der Wassergehalt des Thymus und der Milz von dem Wassergehalt dieser Organe bei den Kontrolltieren kaum abweicht.

*Histologisches Bild.* Da ausser den endokrinen Drüsen auch die Grössenverschiedenheit anderer Organe feststellbar war, erschien es als begründet, das histologische Bild auch dieser kurz zu besprechen.

TABELLE 2.

	Kontrolltiere		Behandelte Tiere		Zunahme %
	Zahl der Ratten	Wassergehalt %	Zahl der Ratten	Wassergehalt %	
Nebennieren . . . . .	14	71,73	13	76,52	4,79
Thymus . . . . .	14	81,11	13	82,05	0,94
Nieren . . . . .	14	79,58	13	81,02	1,44
Milz . . . . .	14	79,26	13	78,40	0,86

Die Rinde der *Nebennieren* ist verbreitert, was durch die Anschwellung (und zugleich vielleicht durch einige Vermehrung) der Zellen der *Z. fasciculata* verursacht wird. Die Nebennieren der nach 56 bis 60 Stunden verendeten Tiere mit Sudan III gefärbt, konnte in jedem Falle festgestellt werden, dass der Lipoidgehalt der *Z. fasciculata* und *reticularis* total verschwunden war, die *Z. glomerulosa* dagegen reichlich sudanophile Tropfen enthielt (Abb. 2).

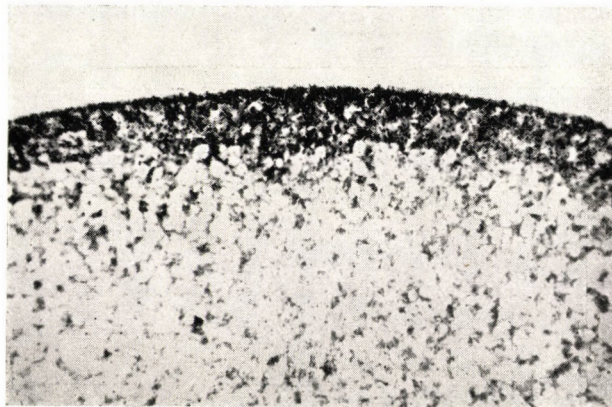


Abb. 2.

Nebennierenrinde mit Sudan III gefärbt. Behandelte Ratte. Lipide ausschliesslich in der *Z. glomerulosa*. 80-fache Vergrösserung.

Höchst charakteristisch ist diese Veränderung, mit einem Polarisationsmikroskop untersucht: während in den Nebennieren der Kontrolltiere sämtliche Schichten



der Rinde — mit Ausnahme der ganz schmalen, sog. Übergangszone — viele doppelbrechende Lipide enthalten, können in den Nebennieren der behandelten Tiere ausschliesslich in der Z. glomerulosa doppelbrechende Lipide, die sich in Form eines schmalen schimmernden Randes melden, beobachtet werden (Abb. 3). Das beginnende Abnehmen des Lipidgehaltes der Z. fasciculata beobachteten wir am frühesten in 4 bis 6 Stunden und nach 24 bis 36

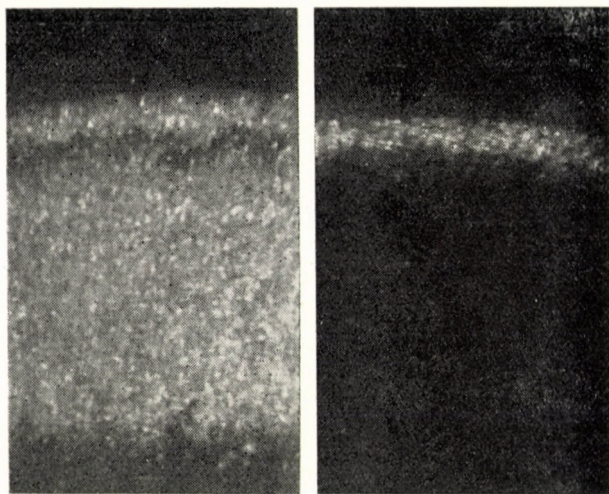


Abb. 3.

Links Nebenniere einer unbehandelten, rechts einer behandelten Ratte.<sup>1</sup> Polarisationmikroskopische Bilder. 80-fache Vergrösserung.

Stunden konnten Lipide gewöhnlich nur noch in der Glomerulosa nachgewiesen werden. In den Nebennieren der die Behandlung überlebenden Tiere stimmten Sudan III, bzw. das polarisationsmikroskopische Bild 10 Tage



Abb. 4.

Fokale Nekrose der Nebennierenrinde. 100-fache Vergrösserung.



nach der ersten Gerbsäureinjektion bereits vollkommen mit dem der Kontrolltiere überein.

Ausser den beschriebenen beobachteten wir in vielen Fällen in den Nebennieren der behandelten Tiere auch schwerere Veränderungen, und zwar kleinere oder grössere Rindenblutungen und fokale Rindennekrosen. Endlich konnten wir in manchen Fällen eine an einen anämischen Infarkt erinnernde, ausgedehntere Rindennekrose beobachten, die einen hämorrhagischen Rand aufwies (Abb. 4).

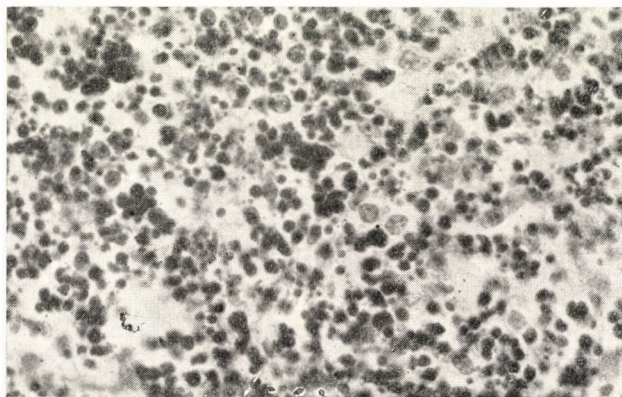


Abb. 5.

Zerfall der Lymphozyten im Thymus. 100-fache Vergrößerung.

Die histologische Grundlage der Verkleinerung des *Thymus* ist der ausgedehnte Verfall der Lymphozyten. Dieser Prozess beginnt schon sehr bald, 4 bis 6 Stunden nach der Gerbsäureinjektion, und erreicht seinen Höhepunkt nach 24 bis 36 Stunden. In der Rindensubstanz des Thymus geht

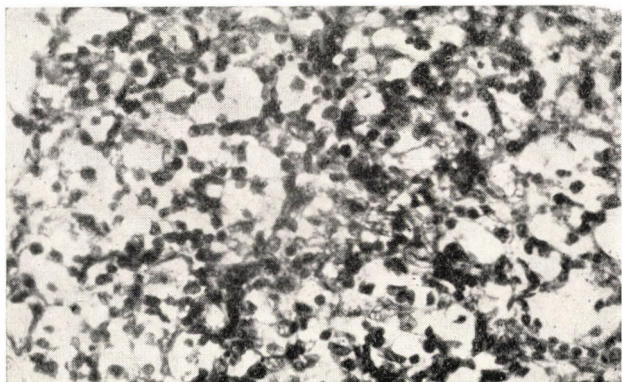


Abb. 6.

Thymus 60 Stunden nach der Behandlung. 400-fache Vergrößerung.



ein grosser Teil der Lymphozyten zugrunde, ihr Kern zerbröckelt oder schrumpft zusammen, so dass der Schnitt so beschaffen ist, wie wenn er von ganz kleinen, dunkeln Staubkörnchen bestreut wäre (Abb. 5). Nach 56 bis 60 Stunden war der grösste Teil der zugrunde gegangenen Lymphozyten bereits weggeräumt, die Reticulumzellen dagegen waren angeschwollen und hatten sich vermehrt (Abb. 6).

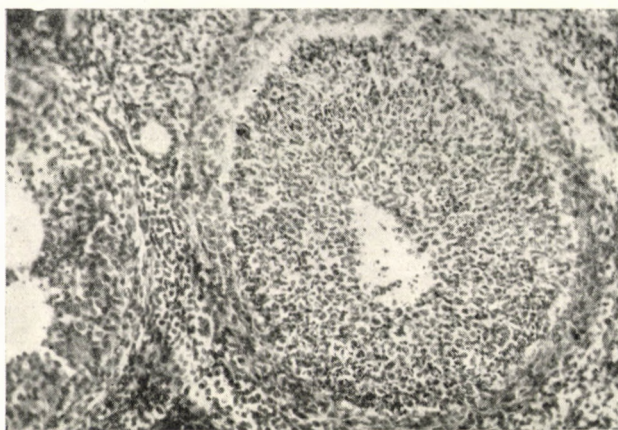


Abb. 7.

Ovarium. Kernzerbröckelung im gelben Körper. 250-fache Vergrösserung.

Auffallende Erscheinungen zeigen sich auch in den *Ovarien*. Das Ovarium der Ratten (auch das der Virgines) enthält fast immer einige kleinere oder grössere Corpora lutea; in diesen fanden wir eine ausgedehnte Karyorrhesis und Pyknose (Abb. 7).

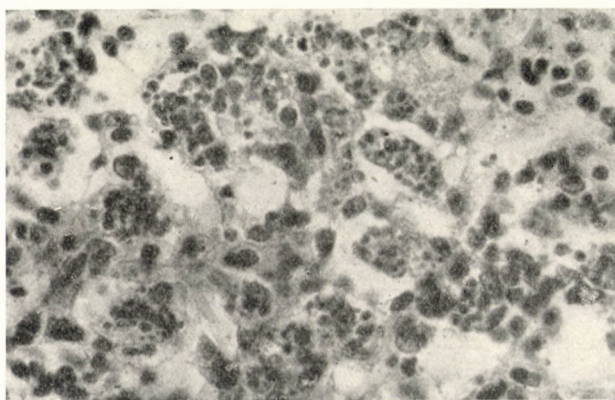


Abb. 8.

Milz. Kernzerbröckelung und Pyknose im Zentrum eines Follikels. 400-fache Vergrösserung.



In der *Schilddrüse* waren in vielen Fällen (jedoch nicht ständig, wie die bisher beschriebenen Erscheinungen) das Verschwinden des Kolloids, eine hochgradige Blutfülle und ein Anschwellen der Epithels zu beobachten.

In der *Hypophyse* fanden wir ausser der Blutfülle durch Haem.-Eo.-Färbung nur eine mässige Degranulation der Eosinophilzellen.

Was die übrigen Organe betrifft, so können in der *Niere* eine trübe Schwellung wechselnden Grades, in der *Milz* bei hochgradiger Blutfülle in dem Zentrum der Follikel eine ausgedehnte Karyorrhesis und Pyknose beobachtet werden. Der Verfall der lymphatischen Zellen der Milz beginnt zu gleicher Zeit mit den im Thymus beobachteten gleichen Veränderungen, und nach 54 bis 60 Stunden sind die Follikel schon auffallend verkleinert (Abb. 8). Endlich ist im *Knochenmark* vereinzelt oder in kleinem Herden eine Zerbröckelung der Kerne der Normoblasten und Myelozyten zu beobachten.

### *Ergebnisse*

Das Gesagte überblickend, kann festgestellt werden, dass infolge unserer Behandlung sich eine mehr oder weniger bestimmt umreissbare Symptomgruppe herausgebildet hat:

1. Eine 46,8%-ige Gewichtszunahme der Nebennieren, vollständiges Verschwinden der gesamt- und doppelbrechenden Lipoide der *Z. fasciculata* und *reticularis*, während gleichzeitig der Lipoidgehalt der *Z. glomerulosa* unverändert ist. In der Nebennierenrinde Blutungen und fokale Nekrosen.

2. Eine 40%-ige Gewichtsabnahme des Thymus infolge des weiten Zerfalles der Lymphozyten. Die Reticulumzellen sind dagegen geschwollen und haben sich vermehrt. Das Gewicht der Milz ist unverändert, trotz den schweren strukturellen Veränderungen. Die Follikel verkleinern sich infolge des im Centrum germinativum wahrnehmbaren schweren Zellenverfalls in bedeutenden Masse. Die hochgradige Blutfülle der Pulpa kann die Unverändertheit des Gewichtes der Milz erklären.

3. In den Ovarien ausgedehnter Zerfall der Luteinzellen.

4. In der Schilddrüse häufiger Kolloidmangel und Erhöhung des Acinus-epithels.

5. Im Knochenmark Karyorrhesis geringen Grades.

6. Eine ungefähr 25%-ige, nicht signifikante Zunahme der Nieren, eine histologisch trübe Schwellung.

7. Eine ungefähr 20%-ige, ebenfalls nicht signifikante Gewichtszunahme der Hypophyse, histologisch eine Blutfülle und Degranulation der Eosinophilzellen.



### Diskussion

Es ist nun die Frage, wie die beobachteten Erscheinungen zu deuten sind und wie sie miteinander zusammenhängen. Es ist evident, dass die Gewichtszunahme der Nebennieren und der Nieren, wenigstens teilweise, eine Folge des Ansteigens des Wassergehaltes ist. *Korpássy* hat als erste Phase der durch Gerbsäure verursachten Leberschädigungen seröse Hepatitis gefunden und angenommen, dass die Gerbsäure parenteral verabreicht, eine Endothelschädigung verursacht, deren Folge eine gesteigerte Permeabilität der Kapillaren ist. Die Steigerung der Permeabilität bei akuter Gerbsäurevergiftung ist, wie es scheint, eine allgemeine Erscheinung, worauf auch der Umstand hinweist, dass andere Autoren nach einer gleichen Behandlung eine Verdichtung des Blutes beobachtet haben.

Besonders beachtenswert ist nach unserer Meinung, was in den Nebennieren beobachtet wurde, hauptsächlich die charakteristische Veränderung des Lipoidgehaltes der Rinde. Nach den Angaben der einschlägigen Literatur kann es kaum umstritten sein, dass die Rindenlipoiden und das Rindenhormon (bzw. die Hormone), in enger Verbindung miteinander stehen, obzwar die nähere Natur dieser Verbindung noch nicht als entschieden betrachtet werden kann (s. *Verzár*). Auch für den histochemischen Nachweis des Rindenhormons (der Hormone) kennen wir noch kein allgemein angenommenes Verfahren. Allgemein akzeptiert ist jedoch, dass die Verbreiterung der Rinde ein Zeichen der Hyperfunktion ist, das rasche Verschwinden der Lipoiden aus der Rinde aber das plötzliche Ansteigen des Rindenhormonbedürfnisses des Organismus bedeutet und dass die Hormonmobilisation, das Hormonbedürfnis grösser ist als die Produktion.

*Abramow* und *Lebel* haben in Verbindung mit Abdominaltyphus, *Abramow* und *Sadownikow* in Verbindung mit Flecktyphus in der Nebennierenrinde eine starke Verminderung des doppelbrechenden Stoffes beobachtet. Nach *Sadownikow* mobilisieren sich die Lipoiden der Rinde unter der Wirkung von Diphtherietoxin sehr rasch: nach drei Stunden (in Tierexperimenten) sind die Lipide fast gänzlich verschwunden. Nach *Sadownikow* ist dieser Prozess im experimentellen Botulismus bedeutend langsamer, indem am Ende des ersten Tages in der Z. glomerulosa noch Lipide auffindbar sind. *Sacharowa* hat das Verschwinden der Rindenlipoiden an menschlichem Material in septischen Prozessen beobachtet.

Das bei unseren Experimenten beobachtete Verschwinden des Lipoidgehaltes der Z. fasciculata und reticularis bei vollständiger Erhaltung des Lipoidgehaltes der Z. glomerularis kann nach unserer Ansicht bedeuten, dass bloss das Hormon der Z. fasciculata mobilisiert wurde, bzw. dass nur von der Hyperfunktion dieser Schicht die Rede sein kann. Das verschiedene Verhalten der Lipoiden der einzelnen Schichten der Rinde war bei unseren



Experimenten eine ständige Erscheinung, und so kann mit Recht angenommen werden, dass es uns gelungen ist, die isolierte Mobilisation des Hormons der Z. fasciculata, bzw. die isolierte Hyperfunktion dieser Schichte auszulösen. In allgemeiner biologischer Beziehung weist dies darauf hin, dass — wenigstens bei der Ratte — *die Funktion der Nebennierenrinde nicht einheitlich ist*, sondern dass sie vom Gesichtspunkt ihrer Funktion und deren Lenkung aus in zwei Teile (Glomerulosa und Fasciculata-Reticularis) getrennt ist.

Unsere Ergebnisse unterstützen in solcher Einstellung die Hypothese *Bennetts* (1939), bzw. *Deanes* und seiner Mitarbeiter (1946) über die zweifache Natur der Funktion der Nebennierenrinde. Diese Autoren haben nämlich gefunden, dass nach der Exstirpation der Hypophyse ausschliesslich die Z. fasciculata atrophisiert, die Verabreichung des adrenokortikotropen Hormons des vorderen Lappens der Hypophyse aber eine Hyperaktivität der Z. fasciculata auslöst, ohne dass die Z. glomerulosa daran in geringstem Masse teilnehmen würde. Auf Grund all dessen wird angenommen, dass sich die Nebennierenrinde vom Gesichtspunkte ihrer Struktur und Funktion aus in zwei Teile teilt: 1. Die äussere Glomerularis steht nicht unter der Kontrolle der Hypophyse, und es scheint, dass sie ein das Na/K-Gleichgewicht regulierendes „Salz- und Wasserhormon“ produziert. 2. Die innere Fasciculata, die wieder unter dem engsten Einfluss der Hypophyse steht und das sog. Zuckerhormon produzieren würde (*Greep* und *Deane*).

Eine weitere beachtenswerte Erscheinung bei unserem Experiment ist die rasche Involution des Thymus, was die Folge des weitreichenden Verfalls der Lymphozyten ist. Diese im ganzen lymphoretikulären System wahrnehmbare Erscheinung kann mit der gesteigerten Mobilisation des Nebennierenrindehormons in Zusammenhang gebracht werden. *Wells* und *Kendall* haben nämlich unter der Wirkung von Corticosteron eine Thymusinvolution, *Dougherty* und *White* aber nach der einmaligen Injektion des Adrenocorticotrophormons der Hypophyse nach einigen Stunden Lymphopenie beobachtet, in Begleitung von Involution des Thymus und anderer lymphatischer Gewebe. Der Verfall des lymphatischen Gewebes kann aber auch durch unmittelbare toxische Wirkung der Gerbsäure entstehen; es werden also weitere Experimente diese Frage zu entscheiden haben.

Auf Grund des Gesagten weisen sowohl der isolierte Lipoidschwund der Z. fasciculata der Nebennierenrinde, wie die Involution der lymphatischen Gewebe auf eine *gesteigerte Funktion der Adenohypophyse*, genauer auf eine gesteigerte Produktion des Adrenocorticotrophormons hin. Die Hypophyse hat sich bei unseren Experimenten tatsächlich vergrössert, was eine gesteigerte Funktion bedeuten kann, diese Vergrösserung ist aber geringfügig und nicht signifikant. Das histologische Bild besagt auch nicht viel; wir hoffen deshalb, durch im Gange befindliche histochemische Untersuchungen



die angenommene gesteigerte Funktion der Adenohypophyse morphologisch beweisen zu können.

Das histologische Bild der Schilddrüse weist ebenfalls auf eine Hyperfunktion hin. Eine Hyperfunktion der Adenohypophyse vorausgesetzt, kann diese nach alledem mit einer gesteigerten Produktion des Thyreotropophormons im Zusammenhang stehen. Bezüglich der Pathogenese des in den gelben Körpern und im Knochenmark beobachteten Zellenverfalls würden wir eher an eine unmittelbare toxische Wirkung der Gerbsäure denken, obzwar nach den bisherigen Untersuchungen eine indirekte hormonale Wirkung nicht auszuschliessen ist.

Endlich möchten wir betonen, dass es uns fernliegt, der parenteral verabreichten Gerbsäure eine spezifisch endokrine Wirkung zuzuschreiben. Nach unserer Ansicht entspricht der von uns in akuter Gerbsäurevergiftung beobachtete endokrine Syndrom oder ein Teil desselben der *Selyeischen* Alarmreaktion. *Selye* stellt die Hypophyse in den Mittelpunkt der Alarmreaktion, nach ihm aktiviert sich die Funktion des vorderen Lappens der Hypophyse durch die verschiedensten nichtspezifischen Schädigungen mit einer erhöhten Produktion des Adrenocorticotrophormons. Die Folge davon ist eine rasche Mobilisierung des Rindenhormons und eine Verbreiterung der Nebennierenrinde. Die Frage der Pathologie der Alarmreaktion können wir aber noch lange nicht als abgeschlossen betrachten. Mit Recht kann nämlich auf Grund unserer Untersuchungen die eventuelle Rolle der übrigen Hormone der Adenohypophyse, vor allem der thyreotropen und gonadotropen Hormone, aufgeworfen werden. Es kann auch die Frage sein, ob die verschiedenen nichtspezifischen Schädigungen stets dieselbe humoralendokrine Reaktion auslösen und was der nähere Mechanismus der Auslösung dieser Reaktion ist. Auf alle diese Fragen, können die weiteren Untersuchungen eine Antwort geben.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Weissen Ratten wurden zweimal s. c. 200 bis 250 mg pro kg Gerbsäurelösung verabreicht. 75% der Tiere verendeten nach 54 bis 60 Stunden. Es wurden eine 46%-ige signifikante Gewichtszunahme der Nebennieren und eine ebenfalls signifikante 40%-ige Gewichtsabnahme des Thymus beobachtet. In der Nebennierenrinde wurden fokale Nekrosen und das Verschwinden der Lipide aus der Z. fasciculata und reticularis beobachtet, der Lipoidgehalt der Glomerulosa dagegen blieb erhalten. Das lymphatische Gewebe ist in ausgedehnter Masse verfallen, Kernzerbröckelung ist auch in den gelben Körperchen und in dem Knochenmark zu finden. Die beschriebene endokrine Symptomgruppe wird mit der Alarmreaktion in eine Parallele gestellt. Aus dem voneinander verschiedenen Verhalten der Lipide der Nebennierenrinde in den einzelnen Schichten wird eine zweifache Funktion der Nebennierenrinde gefolgert.

#### LITERATUR

1. Abramow und Lebel, Compt. rend. soc. biol. Paris, 94, 25. 1926.
2. Abramow und Sadownikow, Virch. Arch. 313, 1944.
3. Bennett, Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 42., 786. 1939.
4. Deane und Greep, Am. J. Anat. 79., 117. 1946.
5. Dougherty und White, Endocrinology, 35., 1. 1944; Proc. Soc. Exper. Biol. and Med. 53., 132. 1943.



6. Greep und Deane, Endocrinology, 40., 417. 1947.
7. Korpássy, Orvosi Hetilap 89., 113. 1948. — Schweiz. Z. Path. Bakt. 12., 13. 1949.
8. Sacharowa, Arch. path. 8., 162. 1946.
9. Sadownikow, Virch. Arch. 317., 315. 1949.
10. Selye, Endocrinology, 21., 169. 1937; Textbook of Endocrinology, Montreal, Canada, 1947.
11. Verzár, Handb. d. inn. Sekretion. Ars Medici, Liestal, 1948.
12. Wells und Kendall, Proc. Staff. Meet. Mayo Clin. 15., 133. 1940.

Бела Корпаши, Янош Тёрёк и Кальман Ковач:

# ЭНДОКРИННЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ОСТРОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОТРАВЛЕНИИ ДУБИЛЬНОЙ КИСЛОТОЙ, СО СПЕЦИАЛЬНЫМ ОБРАЩЕНИЕМ ВНИМАНИЯ НА КОРУ НАДПОЧЕЧНИКА

(Патолого-Анатомический и Патогистологический Институт Сегедского Университета, Венгрия.)

## Резюме:

Эндокринные изменения при остром отравлении дубильной кислотой были исследованы путем опытов, предпринятых над белыми крысами, того же-веса, возраста и пола.

Животные получили 200—250 мг./кг. дубильной кислоты в 2%-ом водном растворе подкожно и эта процедура была повторена 48 часов спустя.

Около 75% подвергнутых этим приемам крыс погибло в 54 до 60 часов после первой инъекции. Оставшиеся жить крысы скончались спустя несколько дней, или недель.

Все железы внутренней секреции показывают значительные различия по сравнению с контрольными животными: надпочечники использованных животных оказались на 46,8% тяжелее, вес тимуса (Thymus), напротив, на 40,8% меньше, чем у контрольных крыс (обращающая на себя внимание разница). Гипофиза использованных животных тоже увеличилась (на 24%), но здесь разница не так важна. Что касается паренхиматических органов использованных животных, то их почки оказались на 27,3% тяжелее, вес селезенки, наоборот на 9,3% меньше (не важные различия).

Мы также измерили содержание воды надпочечных желез, тимуса, почек и селезенки, инецированных животных: содержание воды надпочечной железы было на 4,8% и почек на 1,4% больше, чем у контрольных животных.

Гистологически, корочное вещество надпочечных желез, особенно „Z fasciculata“ расширилось. Из „Z fasciculata“ и „reticularis“ исчезли совершенно липоиды, напротив, липоидальное содержание „Z glomerulosa“ осталось без изменения (препараты, окрашены суданом III и исследованы поляризационным микроскопом). В коре надпочечной железы встречались притом часто фокальные некрозы и кровоизлияние. В тимусе можно было заметить значительный распад лимфоцитов (кариорекс и пикноз), клетки „reticulum“ напротив, были распухшие и размножились. В яичнике показался далекоидущий распад ядра клеток лютеина. В щитовидной железе встречался часто недостаток коллоидов и повышение „asinusepithela“, в гипофизе, застой крови и дегрануляция эосинофильных клеток.

Другие органы: в почках можно было заметить неясную опухоль, в селезенке, при значительном переполнении кровью мякоти в центре фолликула распад лимфоцитов и в костном мозгу умеренное разрушение клеток.

Увеличение надпочечных желез, расширение „Z. fasc.“ как и исчезновение их липоидального содержания, тогда как липоидальное содержание „Z. glomerularis“ осталось совершенно ненарушенным, указывают на то, что была, повидимому приведена в действие изолированная гиперфункция „Z. fasciculata“. Эти наблюдения поддерживают убеждение о двойной функции коры надпочечной железы. Разрушение лимфатической клеточной ткани может быть приведено в соотношение с повышенной мобилизацией гормона надпочечной железы. Наблюдаемые эндокринные изменения указывают на уселенную функцию аденогипофизы и приводят всю группу симптомов в соотношение с алармной реакцией Селье.



# HAEMORRHAGIC GASTRIC EROSIONS AND DUODENUM-PIGMENTATION IN RATS FOLLOWING PARENTERAL ADMINISTRATION OF SOLUTIONS OF TANNIC ACID

By :

*B. Korpássy and K. Kovács*

(From the Department for Pathological Anatomy, University Szeged.)

(Received: 1. V. 1950.)

Studying the effect of tannic acid solutions subcutaneously administered to white rats a remarkable greyish-black staining was observed in the mucous membrane of the duodenum. No mention of this observation has been made in the publications: The hepatotoxic effect of tannic acid (*Korpássy* 1949), Endocrine changes appearing in acute tannic acid poisoning (*Korpássy, Török and Kovács* 1950), and The experimental tannic acid cirrhosis (*Korpássy and Kovács* 1949). As this peculiar duodenum staining is, in our opinion, closely connected with haemorrhagic gastric erosions produced by parenterally administered tannic acid — which latter have, however, hitherto not described — and as this problem possesses also certain general pathological references, we considered it necessary to give a short account of our investigations relating to this problem.

## *Experimental methods*

Our experiments were carried out on young male and female white rats. Their weight was 60 to 120 g. at the beginning of the experiments. The experimental animals were fed on a mixed diet (leavings from hospital), certain groups received mostly food rich in protein, fat or carbohydrates. Tannic acid (Acid. tannic. U. S. P. Johnson, London) was subcutaneously administered in a 1 to 2 per cent aqueous solution while in other experiments 2,5 to 5 per cent aqueous tannic acid solutions were administered by a stomach sound. In such cases 250 mg. per Kg. of body weight of tannic acid was twice, subcutaneously injected (the first treatment was followed 48 hours later by the second one); perorally, however, 3 ml. of tannic acid was administered twice a day, or once a day. In prolonged treatment first 150 mg per Kg. of tannic acid was administered subcutaneously, on an average on every fifth day, later the dose was increased to 200 and 250 mg. per Kg., respectively. Finally skin ulcers the size



of a crown produced by burning on white rats were daily painted with 5 per cent tannic acid solution for a longer period. The numbers of the experimental animals were: 80 in acute parenteral poisoning, 25 in acute peroral poisoning, 100 in prolonged parenteral treatment, 40 in prolonged peroral treatment, 20 rats in skin painting.

### *Results*

No pathological signs worth mentioning were observed in the gastro-intestinal tract of the animals while being treated. Of the rats which were killed or died during the treatment, the most explicit changes were shown, also macroscopically, in the gastro-intestinal tract of such as had been treated with tannic acid solution subcutaneously for a longer period (60 to 200 days).



Fig. 1.

Haemorrhagic gastric erosions and the black staining of the duodenum. Rat Sz/26, treated 169 days, received 27 s. c. injections.

On the mucous membrane of the stomach of most of the animals thus treated haemorrhagic erosions could be observed, however, sporadically 4 to 6, even more, with a diameter of 1—3 mm. They are observable mostly in the fundus (Fig. 1), rather rarely immediately over the pylorus. It is exceptionally only that small multiple ulcers occur in the forestomach covered with squamous epithelial lining (Fig. 2). The mucous membrane is covered by a fine thin mucus of a colour similar to that of coffee-grounds. All these gastric changes can be found also in cases of experimental acute tannic acid poisoning. Neither any production of ulcers of substantial depth nor any perforations were observed in any of the cases.

The duodenum of these animals is more or less of a similarly greyish-black colour from the pylorus to the jejunum in a length of 8 to 10 cm. This change is most marked immediately beneath the pylorus, when approaching the



jejunum however, it fades somewhat. The colour of other intestinal parts does not differ from the normal. The intensity of the dark staining of the duodenum seems to be more or less proportionate to the period of parenteral treatment: after a short treatment it is mild and rather spotty, in animals surviving 60 days there appears an already diffuse, greyish-black or black staining, while in those with prolonged treatment the intensity of pigmentation hardly changes, or in any case it is of a somewhat milder degree. Contemporaneously with the staining of the duodenum, the variable size (that of a pea or bean) of the mesenterial lymphatic nodes and also their greyish-brown staining can be observed.

Haemorrhagic gastric erosions are produced by tannic acid injected parenterally and sublethally or in dose LD 50 (150—250 mg. per Kg). The greyish-black staining of the duodenum after such a treatment begins on the

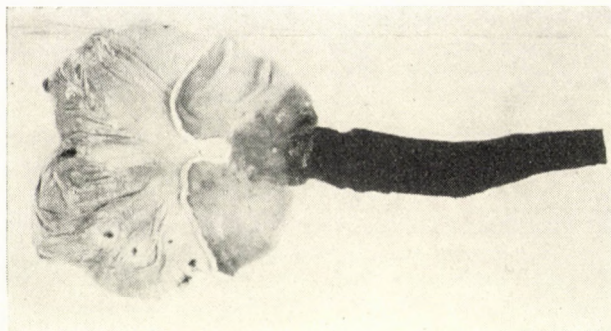


Fig. 2.

Haemorrhagic erosions in the fore-stomach of rat and duodenum-pigmentation. Rat D/16, treated 176 dys, received 26 s. c. injections.

5th or 6th day. In rats treated with tannic acid perorally for shorter or longer periods and in those painted with tannic acid solution neither gastric erosions nor staining of the duodenum were observable. The diet — according to our experience collected up to now — does not exercise any particular effect on the changes, described above, of the gastro-intestinal tract. Similarly, neither the sex nor the age of the animals seem to have any effect.

*Microscopically* a superficial lack of the mucosa can be seen in accordance with gastric erosions covered with digested blood and detritus, at the bottom of which i. e. in the depth of the mucosa a dilated vessel filled with blood was frequently found. Inflammatory infiltration is commonly absent. Healed ulcers or erosions are not histologically recognisable either.

The villi in the duodenum are of rusty-brown colour (haem. eo. staining) and contain mostly finely granular pigment. Such pigment first appears only



in the tip of the villi immediately underneath the epithelial lining, while in prolonged treatment the whole stroma is filled with pigment lumps. The greatest quantity of pigment is contained in the walls of the capillaries (endothelial cells and adventitial membrane), but the cytoplasm of the macrophages between the capillaries is also filled with pigment lumps (Fig. 3.) Pigmentation does not reach so far as to the submucosa or the Brunner glands. Macrophages filled with pigment — in prolonged treatment — appear in groups also in the sinuses of the mesenterial lymph nodes.

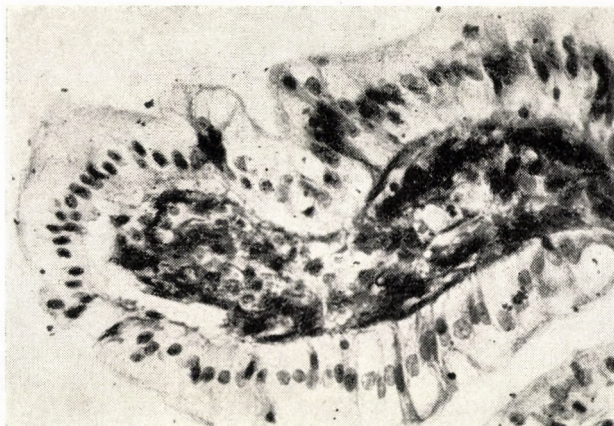


Fig. 3.  
Pigment accumulation in the villi of the duodenum. Rat Sz/29, treated 206 days, received 31 s. c. injections  $\times 350$ .

The observed pigment shows the following properties: it does not dissolve in water, alcohol, ether, acetone, chloroform or xylene. Hydrochloric acid, sulphuric acid and potassium hydroxide dissolve it. In unstained preparations it is black; neutral red does not stain it; sulphuric acid does not colour it; and it does not possess any silver affinity. It gives a good iron reaction (Berlin blue).

#### Discussion

Haemorrhagic erosions can be produced in very different ways: cerebral lesions (*Burdenko and Mogilnitzky 1926, Kálló and Korpássy 1931, Keller, Hare and d'Amour 1933*), intravenously administered coffein (*Roth and Ivy 1945*), various locally and parenterally administered chemical substances (*van Wagoner and Churchill 1932*), dietetical factors (*Zucker, Berg and Zucker 1945*) etc. *Selye* considers the appearance of haemorrhagic gastric erosions characteristic in alarm reaction. In our opinion haemorrhagic gastric erosions produced by parenterally administered tannic acid are a part of the syndrome present in the alarm reaction; we may, however, remark that further investigations are necessary as to its more particular pathogenesis.



Hitherto only *Barnes* (1948) discussed the dark pigmentation of the duodenum following treatment with tannic acid. In his opinion this pigment is the result of iron tannic acid fixation, but whence the iron originates he cannot say. It is remarkable, that he was not able to produce pigmentation of the duodenum by administering gallic acid subcutaneously. *Barnes* in his work does not even mention haemorrhagic gastric erosions or any other changes in the stomach nor can he give any satisfactory explanation as to the cause of the staining of the duodenum mucosa.

According to our investigations, there is a causal connection between the pigmentation of the duodenum and haemorrhagic gastric erosions. Sublethal doses of tannic acid administered parenterally cause gastric erosions. Gastric erosions heal without leaving any trace, but if the treatment is repeated from time to time, and the dose is gradually increased in order to avoid the animals becoming accustomed to it, the gastric erosions seem to appear again and again. The blood iron resulting from gastric erosions and absorbed in the intestines seems to be fixed to the tannic acid that entered the organism in the wall of the capillaries of the villi of the duodenum. The iron-tannic-acid pigment thus formed does not only cause a black staining of the mucous membrane of the duodenum but through the macrophages it reaches also the mesenteric lymphatic nodes. This interpretation of the dark staining of the duodenum is supported in every respect by the negative result of the peroral treatment with tannic acid. Though — as proved by our previous investigation published elsewhere (*Korpássy, Koltay and Horvai* 1950) — the tannic acid is being absorbed also from the gastro-intestinal tract; no duodenum pigmentation arises as yet, obviously because peroral tannic acid treatment does not produce gastric erosions.

It will probably be of interest to mention that it is exclusively in the duodenum that such a pigment with iron content is produced. It may be supposed that the absorption of iron in the duodenum is very favourable. This commonly accepted supposition, however, has been refuted by *Copp and Greenberg's* investigations (1946) made with radioactive iron, as they proved that iron is being absorbed all along the small intestines. It was learned from *Jancsó's* investigations (1947) that the physiological activator of the reticulo-endothelial cell system is histamine. The elective pigmentation as a result of a parenteral tannic acid treatment of the duodenum may indicate that the histamine content of the duodenum differs from that of the stomach and the intestines.

#### SUMMARY

Tannic acid in a 1 to 2 per cent aqueous solution parenterally administered to white rats produces gastric erosions. In the same animals there arises an elective greyish-black staining of the duodenum mucosa. In our opinion there is a causal connection between these two symptoms, i. e. the blood or more correctly the iron originating



from the haemorrhagic gastric erosions is being fixed to the tannic acid in the villi of the duodenum mucosa and thus produces a black, iron-containing pigment. Perorally administered tannic acid in 2 to 5 per cent aqueous solutions does not cause gastric erosions, nor can any staining of the duodenum mucosa be ascertained. The elective pigmentation of the duodenum may indicate that the histamine content of the duodenum differs from that of the stomach and the intestines.

#### LITERATURE

1. Barnes J. M., Brit. J. exper. Path. 29., 425. 1948.
2. Burdenko N. and Mogilnitzky B., Zschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiat. 103., 42. 1926.
3. Copp D. H. and Greenberg D. M., J. biol. Chem. 164., 377. 1946.
4. Jancsó N., Nature 160., 227. 1947.
5. Kálló A. and Korpássy B., Z. exper. Med. 77., 533. 1931.
6. Keller A. D., Hare W. K. and d'Amour M. C., Proc. Soc. exper. Biol. Med. 30., 772. 1933.
7. Korpássy B., Schweiz. Zschr. Path. Bakt. 12., 13. 1949.
8. Korpássy B., Koltay N. and Horvai R., Wien. klin. Wschr. 62., 270. 1950.
9. Korpássy B. and Kovács K., Brit. J. exper. Path. 30., 266. 1949.
10. Korpássy B., Török J. and Kovács K., Kísér. Orvostud. (hungarian). 2., 115. 1950.
11. Roth J. A. and Ivy A. C., Surgery 17., 644. 1945.
12. Selye H., Textbook of Endocrinology, Montreal, Canada, 1947.
13. Van Wagoner F. H. and Churchill T. P., Arch. Path. 14., 860. 1932.
14. Zucker T. F., Berg B. N. and Zucker L. M., J. Nutrition 30., 301. 1945; 30., 319. 1945.

Сообщили: Беа Корпаш и Кальман Ковач

#### КРОВОТОЧНЫЕ ГАСТРИЧЕСКИЕ ЭРОЗИИ И ПИГМЕНТАЦИЯ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ У КРЫС, ВСЛЕДСТВИЕ ВВЕДЕНИЯ РАСТВОРА ТАНИНА

(Институт патологической анатомии и патологической гистологии, Сегед)

#### Резюме

При опытах произведенных над белыми крысами, авторы убедились, что танин введенный в дозах ниже смертельных (с 1% до 2% в водном растворе) в слизистую оболочку вызывает — как при острых, так и при длительных опытах кровотоочивые гастрические эрозии

У тех же животных можно было заметить элективную серо-черную окраску слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Применением „регос“ танина (водяной раствор с 1% до 5%), как и смазываением кожных язв танином не удалось вызвать — как в острых, так и в хронических опытах — ни гастрической эрозии, ни какой бы то ни было окраски слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки. Авторы предполагают, что между этими двумя симптомами существует связь, другими словами, что кровь, выделяемая гастрическими эрозиями и впитываемая кишками или вернее, железо, содержащее в этой крови, связывается танином в стенках волосных сосудов ворсинок двенадцатиперстной кишки. Железо-танинный пигмент, возникший таким образом, окрашивает в черный цвет слизистую оболочку двенадцатиперстной кишки. Макрофаги, наполненные пигментом встречаются целыми группами в синусах межкишечных лимфатических узлов.

Авторы считают, что кровотоочивые гастрические эрозии, возникшие вследствие введения в слизистую оболочку танина, являются алярмной реакцией, выступающей в виде частичного симптома общей патологической картины, тогда как элективная окраска двенадцатиперстной кишки приписывается ими тому, что содержание гистамина в двенадцатиперстной кишке, разнится от его содержания в других частях кишечного канала.







Akadémiai Kiadó (Budapest VI, Sztálin-út 31). Felelős: Mestyán János.

---

53 177. — Egyetemi Nyomda, Budapest. (F.: Mező Sándor.)



Les Acta Physiologica paraissent en russe, français, anglais et allemand et publient des mémoires du domaine des sciences médicales expérimentelles.

Les Acta Physiologica sont publiées sous forme de cahiers qui seront réunis en volumes de 300 à 500 pages. Il paraît, en général, un volume par an.

Les manuscrits, autant que possible écrits à la machine, doivent être envoyés à l'adresse suivante:

*Acta Physiologica, Budapest 62, Postafiók 440.*

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est 60 forints par an.

On peut s'abonner à l'entreprise de commerce extérieur des livres et journaux „Kultúra“ (Budapest V, Akadémia-u. 10. Compte courant No. 929040) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

---

The Acta Physiologica publish papers on experimental medical science, in Russian, French, English and German.

The Acta Physiologica appear in parts of various size, making up volumes of 300—500 pages. On the average, one volume is published per year.

Manuscripts should, if possible, be typed and addressed to:

*Acta Physiologica, Budapest 62, Postafiók 440.*

Correspondance with the editors or publishers should be sent to the same adresse.

The rate of subscription to the Acta Physiologica, is 60 forint a volume. Orders may be placed with „Kultúra“ Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest V, Akadémia-u. 10. Account No. 929040) or with representatives abroad.

---

Die Acta Physiologica veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereiche der experimentellen medizinischen Wissenschaften in russischer, französischer, englischer und deutscher Sprache.

Die Acta Physiologica erscheinen in Heften wechselnden Umfanges. Mehrere Hefte bilden einen Band von 20—30 Bogen. Im allgemeinen erscheint jährlich ein Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind, möglichst mit Maschine geschrieben, an folgende Adresse zu senden:

*Acta Physiologica, Budapest 62, Postafiók 440.*

An die gleiche Anschrift ist auch jede Korrespondenz, bestimmt für die Redaktion und den Verlag zu senden.

Abonnementspreis pro Band 60 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Aussenhandels-Unternehmen „Kultúra“ (Budapest V, Akadémia-u. 10. Bankkonto Nr.: 929040) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.



## INDEX

Предисловие — Préface — Preface — Vorwort.....	1
BIOPHYSICA — БИОФИЗИКА	
<i>Ernst E., Tigyi J. und Zahorcsek, A.:</i> Bindungszustand des Wassers und der Electrolyte im Muskel — <i>Е. Эрнст, И. Тидии, А. Загорчек:</i> Состояние связанности мышечных электролитов и мышечной воды.....	5
<i>Nowotny A.:</i> Variable-capacity Apparatus for Rapid Elektrodialysis — <i>А. Новотни:</i> Аппарат с переменной емкостью для быстрого электро-диализа..	27
BIOCHEMIA — БИОХИМИЯ	
<i>Wollemann M., Feuer Gy. und Straub F. B.:</i> Inwiefern entspricht der Aktomyosin-Faden als Muskelmodell? — <i>М. Воллеманн Г. Фейер, Ф. Б. Штрауб:</i> Степень пригодности акто-миосинной нити, в качестве модели мышц	34
PHYSIOLOGIA — ФИЗИОЛОГИЯ	
<i>Nagy D. and Lissák K.:</i> The Adrenalin Reversal Reaction of the Uterus Muscle — <i>Д. Надь и К. Лисшак:</i> Обратная реакция на адреналин мускулатуры матки .....	44
<i>Gotsev T. and Ivanov As.:</i> Psychogenic Elevation of Body Temperature in Healthy Persons — <i>Т. Гоцев и А. Иванов:</i> Психогенное повышение на телесную температуру здоровых людей .....	53
PHARMACOLOGIA — ФАРМАКОЛОГИЯ	
<i>Gyermek L., Sztanyik L. and Láng E.:</i> The Adrenolytic and Sympatholytic Efficiency of Ergot Alkaloids — <i>Л. Дьермек Л. Станик и Е. Лан:</i> Адреналитическое и симпатолитическое действие алкалоидов спорыньи .....	63
<i>Kertész T. and Ács L.:</i> The Pregnancy Test with Male Frogs — <i>Т. Кертеш и Л. Ач:</i> Проба на беременность посредством прививки самцу-лягушке ...	75
<i>Komlós E., Pórszász J. und Knoll J.:</i> Morphin-Prostigmin synergismus — <i>А. Комлош, И. Порсас и И. Кнолл:</i> Морфио-простигминный синергизм .....	77
MICROBIOLOGIA — МИКРОБИОЛОГИЯ	
<i>Ivánovics G. und Koch A.:</i> Lymphozytäre Choriomeningitis Virus-(Armstrong) Erkrankungen in Ungarn — <i>Г. Иванович и А. Кох:</i> Заболевания от вируса лимфоцитарного хориоменингита (болезнь Армстронга) в Венгрии ....	91
<i>Kesztyüs L., Szilágyi T., Nikodemusz S. and Jávör T.:</i> Antigenic Behaviour of Fibrinogen — <i>Л. Кештьюш, Т. Силадьи, Ш. Никодемус и Т. Явор:</i> Антигенные свойства фибриногена.....	100
<i>Rauss K.:</i> Classification of Sh. Flexneri — <i>К. Рауш:</i> Классификация „SH FLEXNERI” .....	105
PATHOLOGIA — ПАТОЛОГИЯ	
<i>Korpássy B., Török J. und Kovács K.:</i> Endokrine Veränderungen bei experimenteller akuter Gerbsäurevergiftung, mit besonderer Rücksicht auf die Nebennierenrinde — <i>Б. Корпашы, Я. Тёрёк и К. Ковач:</i> Эндокринные изменения при остром экспериментальном отравлении дубильной кислотой, со специальным обращением внимания на кору надпочечника .....	113
<i>Korpássy B. and Kovács K.:</i> Haemorrhagic Gastric Erosions and Doudenum-Pigmentation in Rats Following Parenteral Administration of Solutions of Tannic Acid — <i>Б. Корпашы и К. Ковач:</i> Кровоточные гастрические эрозии и пигментация двенадцатиперстной кишки у крыс, вследствие введения раствора таннина .....	125